

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARIA HELENA VERDAN

ESTUDO FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DAS
RAINHAS-DO-ABISMO: *Sinningia leucotricha* e *S. canescens* (GESNERIACEAE)

CURITIBA

2015

MARIA HELENA VERDAN

ESTUDO FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DAS
RAINHAS-DO-ABISMO: *Sinningia leucotricha* e *S. canescens* (GESNERIACEAE)

Tese apresentada como parte dos requisitos
para a obtenção do Título de Doutor em
Química, Área de Concentração: Química
Orgânica, Curso de Pós-Graduação em Química,
Departamento de Química, Setor de Ciências
Exatas, Universidade Federal do Paraná

Orientadora: Profa. Dra. Maria Élide Alves
Stefanello

Projeto realizado com auxílio financeiro do CNPq (processo n^o. 472-392/2011-5) e
da Fundação Araucária (protocolo n^o. 38.394/2013)

CURITIBA

2015

V483e

Verdan, Maria Helena

Estudo fitoquímico e avaliação da atividade citotóxica das Rainhas-do-
Abismo : *Sinningia leucotricha* e *S. canescens* (GESNERIACEAE)/ Maria
Helena Verdan. – Curitiba, 2015.
289 f. : il. color. ; 30 cm.

Tese - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas,
Programa de Pós-graduação em Química, 2015.

Orientador: Maria Éilda Alves Stefanello .

Bibliografia: p. 277-289.

1. Plantas ornamentais. 2. Naftoquinona. 3. Sesquiterpenos. 4.
Compostos fenólicos. 5. Citotoxicidade de mediação celular. I. Universidade
Federal do Paraná. II. Stefanello, Maria Éilda Alves. III. Título.

CDD: 572.2

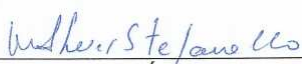
TERMO DE APROVAÇÃO

**ESTUDO FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
CITOTÓXICA DAS RAINHAS-DO-ABISMO:
Sinningia leucotricha e *S. canescens* (Gesneriaceae)**


por

MARIA HELENA VERDAN

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Química, pela Comissão Examinadora composta por:




Prof.^a. Dr.^a. Maria Elida Alves Stefanello
Orientadora
Dep. de Química – UFPR




Prof.^a. Dr.^a. Patrícia Sartorelli
Ciências Exatas e da Terra – UNIFESP



Prof. Dr. João Henrique Ghilardi Lago
Ciências Exatas e da Terra – UNIFESP



Prof. Dr. Andersson Barison
Dep. de Química – UFPR



Prof. Dr. Leandro Piovan
Dep. de Química – UFPR

Curitiba, 18 de setembro de 2015.

Dedico esta tese à minha família, em especial aos meus pais Francisco e Rosélis, minha irmã Maria Cláudia e ao meu marido Victor Hugo, por todo o apoio e suporte tanto intelectual quanto emocional durante esta jornada, além da minha orientadora Maria Élide pela dedicação em todos esses anos.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Professora Maria Élide Alves Stefanello, por todo o tempo dedicado a me ensinar, me orientar, tanto nas questões profissionais como pessoais. Agradeço a amizade construída, a confiança e a determinação em me guiar até aqui. Agradeço todos os dias por ter caído em suas mãos. És um exemplo de mãe e orientadora!

Aos membros da banca, Professores João Henrique Ghilardi Lago, Patricia Sartorelli, Andersson Barison e Leandro Piovan que prontamente aceitaram avaliar e contribuir com este trabalho, além do Professor Francisco de Assis Marques que foi membro da banca de qualificação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química pela estrutura e suporte para a realização deste trabalho.

À Universidade Federal do Paraná por toda a sua estrutura e por ter sido uma ótima segunda casa.

Aos Professores que me auxiliaram na minha formação como doutora, Andersson Barison, Beatriz H. L. N. S. Maia, Luiz Pereira Ramos, Alfredo A. M. de Oliveira, Francisco de Assis Marques, Élide P. Santos, Gilberto Abate, e a todos os outros que de uma forma ou outra me ajudaram nesta etapa.

Ao CNPq pela bolsa de estudos, pela autorização ao acesso do patrimônio genético (processo 010087/2012-5) e pelo apoio financeiro (processo 472-392/2011-5).

À Fundação Araucária pelo apoio financeiro (protocolo 38.394/2013).

Ao Professor Dr. Andersson Barison pela ajuda com as análises de RMN.

Ao Professor Dr. Marcos N. Eberlin (UNICAMP) e ao Dr. Lauro S. Mera (UFPR) pelos espectros de massas de alta resolução.

Aos Professores Drs. Marcos José Salvador (Instituto de Biologia – UNICAMP) e João Ernesto de Carvalho pelos ensaios de atividade citotóxica realizados no CPQBA (UNICAMP).

Ao Professor Dr. Marcelo Müller-Santos pela ajuda com as análises de dicroísmo circular (UFPR).

Ao Professor Dr. Eduardo Lemos de Sá pelos cálculos teóricos.

À Dra. Dilamara Riva Scharf pelas análises de CG-EM (FURB).

Ao Professor Dr. Ricardo Tadeu de Faria e sua aluna Dra. Lilian K. Unemoto pela coleta da *Sinningia leucotricha* e à Dra. Ana Odete Vieira pela identificação da mesma.

Ao Professor Armando Carlos Cervi (em memória) pela coleta e identificação da *Sinningia canescens*.

Ao Professor Dr. Alfredo R. M. Oliveira pela ajuda com o CLAE.

Aos funcionários do Museu Botânico Municipal de Curitiba, principalmente à Clarice B. Poliquesi pela parceria na obtenção de novas espécies de *Sinningia*.

À minha família, Pai, Mãe, Cláu, por todo o suporte, mesmo de longe, sempre soube que estavam ao meu lado, me auxiliando e confiando em mim. Sem a companhia de vocês não teria chegado até aqui.

Ao meu marido, Victor, que sempre esteve comigo, me apoiando, me guiando e cuidando de mim, trazendo alegria, carinho e por ser um motivo a mais para seguir em frente.

À família Rodrigues de Souza por ser minha segunda família.

Aos meus amigos de laboratório e agora de vida, Regiane L. Batista Strapasson, Dilamara Riva Scharf, Thalita Gilda Santos, Edione Fátima Canzi, Magali Amorin, Adson Soares da Silva, Vanessa Winiewski, Cristhian Santos Oliveira, Emanuelle Kretz Meneghetti, Tânia Fabiana Dlugoviet, Kahlil Salomé, Angelita Nepel, Carlos Augusto Ehrenfried, Letícia L. F. Barros, Aurea Portes Ferriani, Inaiara Capsula, pela amizade, carinho e atenção nesses anos todos.

Aos meus amigos e colegas de Departamento que ao longo dos anos fomos criando laços fortes e amizades verdadeiras.

A todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente a este trabalho, muito obrigada! Todos tem um lugar especial em meu coração!

*Viver... é perceber a existência do ser
É sentir a grandiosidade do existir através do amor e do bem querer
Viver... é estar atento às tempestades do percurso
E conseguir acostumar os olhos à escuridão para, apesar dela, enxergar
a luz
Viver... é ter consciência da volta, e por isso valorizar a vida
Enfim viver...
É emanar amor pela eternidade...
(Sônia Tozzi)*

RESUMO

A família Gesneriaceae (150 gêneros / 3.500 spp) está representada no Brasil por 27 gêneros e 211 espécies. *Sinningia* é o gênero mais abundante no país, com 69 espécies. Várias classes de metabólitos secundários, como quinonas, terpenos, e glicosídeos fenólicos ocorrem em *Sinningia* spp. Visando contribuir para o conhecimento químico deste gênero, o presente trabalho descreve o estudo fitoquímico e a atividade citotóxica de *S. leucotricha* e *S. canescens*, duas espécies encontradas no estado do Paraná e conhecidas como rainha-do-abismo. Os tubérculos secos foram extraídos com solventes e os extratos fracionados através de técnicas cromatográficas como CCD, CC e CLAE. Diversos métodos espectroscópicos (UV, DC, RMN, EM, CG-EM), cálculos teóricos, e comparação com dados da literatura, foram utilizados para identificação das substâncias isoladas. No total o estudo fitoquímico forneceu 35 substâncias: 7-hidroxi- α -dunniona (**S1**), 6-metoxi-7-hidroxi- α -dunniona (**S2**), 7,8-dimetoxi- α -dunniona (**S3**), 7-metoxi-8-hidroxi- α -dunniona (**S4**), 6,7-dimetoxi- α -dunniona (**S5**), 7,8-dimetoxi-dunniona (**S6**), 7,8-dimetoxicanescenona (**S7**), 7,8-dimetoxidunniol (**S8**), 1-hidroxi-1-metilenocarboxi-7,8-dimetoxi- α -dunniona (**S9**), tectoquinona (**S10**), 2-(4'-hidroxifenil)-5-hidroxi-7-metoxi-3-benzofuranal (**S11**), 2-(4'-metoxifenil)-5-hidroxi-7-metoxi-3-benzofuranal (**S12**), presilphiperfolan-9-ol (**S13**), ácido leucotrichóico (**S14**), leucotrichol (**S15**), 11-*epi*-subergorgiol (**S16**), leucotrichanal (**S17**), 11-*epi*-silphiperfolenal (**S18**), cedrol (**S19**), 2,6,7-tri-*epi*-cedrol (**S20**), hederagenina (**S21**), ácido 23-hidroxiursólico (**S22**), ácido betulínico (**S23**), halleridona (**S24**), cleroindicina B (**S25**), cleroindicina C (**S26**), cornosídeo (**S27**), 4-hidroxibenzoato de metila (**S28**), 4-hidroxibenzoato de etila (**S29**), etilglucose (**S30**), calceolariosídeo B (**S31**), calceolariosídeo A (**S32**), plantainosídeo A (**S33**), conandrosídeo (**S34**), e isoverbascosídeo (**S35**). Adicionalmente, a análise por CG-EM de frações de *S. canescens* levou à identificação de mais 39 sesquiterpenos, destacando-se α -cedreno, 2-*epi*-funebreno, β -cedreno e β -santaleno. As substâncias **S2**, **S3**, **S4**, **S5**, **S6**, **S7**, **S8**, **S9**, **S11**, **S12**, **S14**, **S15**, **S16**, **S17**, **S18** e **S20** são inéditas. Os extratos etanólicos, frações e substâncias isoladas foram testados contra várias linhagens de células tumorais humanas, usando o método da sulforrodamina B. A potência foi determinada como a concentração capaz de inibir totalmente o crescimento celular (TGI). O extrato etanólico de *S. canescens* inibiu principalmente o crescimento das linhagens MCF-7 (mama) e NCI-ADR/RES (ovário resistente a múltiplos fármacos), com TGI de 27,82 e 28,87 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. Por outro lado, o extrato de *S. leucotricha* apresentou uma forte atividade contra as células de leucemia (K562 - TGI 0,36 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Dentre as substâncias isoladas, **S1**, **S14**, **S16**, **S25**, **S26** e **S31** foram testadas. **S1** foi a mais potente, inibindo o crescimento das células de melanoma (UACC-62), glioma (U251), mama (MCF-7), ovário resistente a múltiplos fármacos (NCI-ADR/RES), rim (786-0), pulmão (NCI-H460), próstata (PC-3), e leucemia (K562) com valores de TGI entre 4,58 e 31,31 $\mu\text{g mL}^{-1}$. As demais foram inativas (TGI > 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

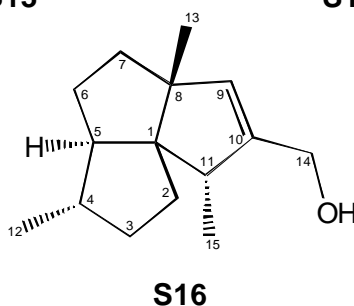
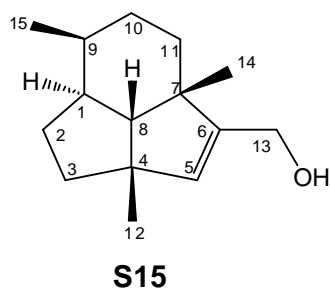
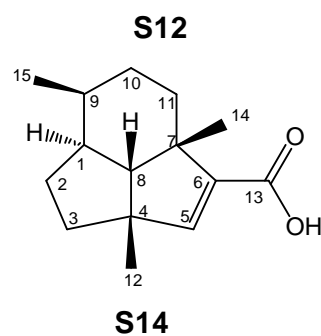
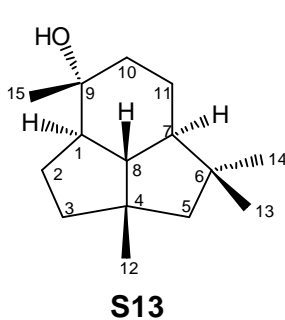
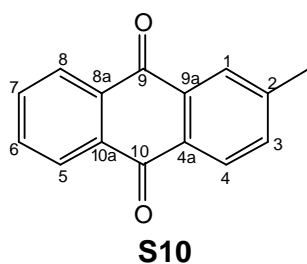
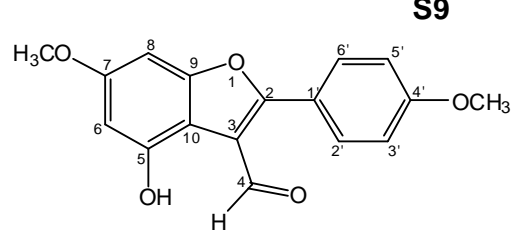
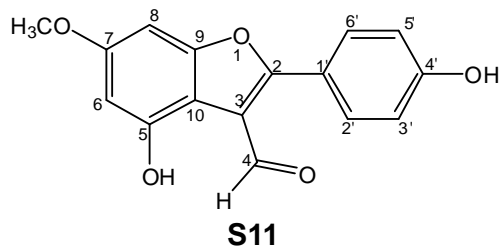
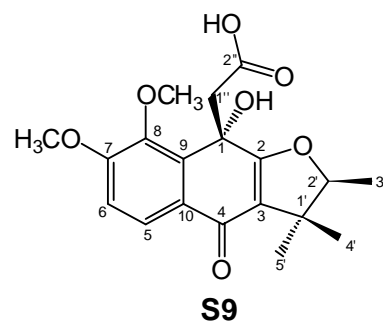
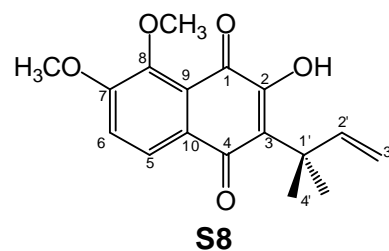
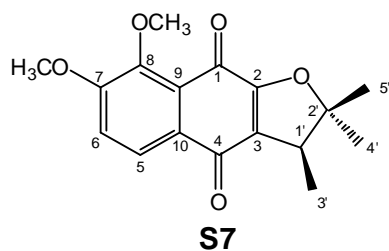
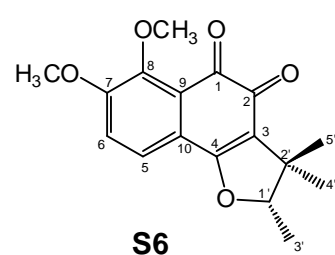
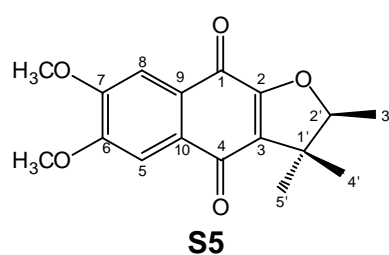
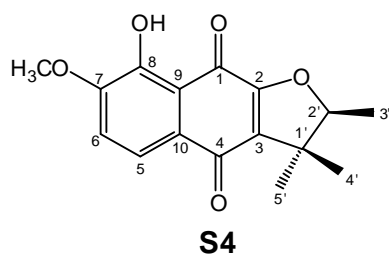
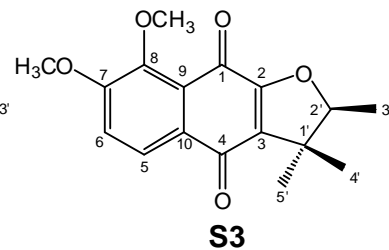
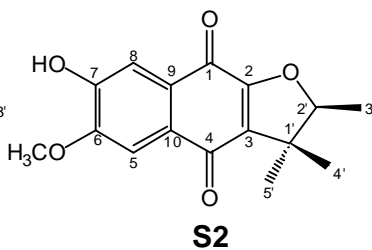
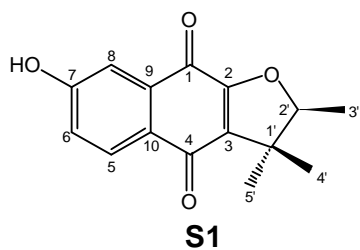
Palavras-chave: Gesneriaceae, *Sinningia leucotricha*, *S. canescens*, naftoquinonas, sesquiterpenos, glicosídeos fenólicos, atividade citotóxica.

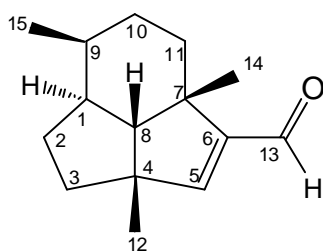
ABSTRACT

The Gesneriaceae family (150 genera / 3.500 spp) is represented in Brazil by 27 genera and 211 species. *Sinningia* is the most abundant genus in the country, with 69 species. Many classes of secondary metabolites, like quinones, terpenes, and phenolic glycosides occur in *Sinningia* species. Aiming to contribute for the chemical knowledge of this genus, the present work describes the phytochemical study and cytotoxic activity of *S. leucotricha* and *S. canescens*, two species found in Paraná state and known as "rainha-do-abismo". Dried tubers were extracted with solvents and the extracts were fractionated by chromatographic techniques, like PTLC, CC and HPLC. Several spectroscopic methods (UV, CD, NMR, MS, GC-MS), theoretical calculations, and comparison with the literature, were used to identify the isolated substances. This phytochemical study resulted in 35 compounds: 7-hydroxy- α -dunnione (**S1**), 6-methoxy-7-hydroxy- α -dunnione (**S2**), 7,8-dimethoxy- α -dunnione (**S3**), 7-methoxy-8-hydroxy- α -dunnione (**S4**), 6,7-dimethoxy- α -dunnione (**S5**), 7,8-dimethoxy-dunnione (**S6**), 7,8-dimethoxy-canescenone (**S7**), 7,8-dimethoxy-dunniol (**S8**), 1-hydroxy-1-methylenecarboxy-7,8-dimethoxy- α -dunnione (**S9**), tectoquinone (**S10**), 2-(4'-hydroxyphenyl)-5-hydroxy-7-methoxy-3-benzofuranal (**S11**), 2-(4'-methoxyphenyl)-5-hydroxy-7-methoxy-3-benzofuranal (**S12**), presilphiperfolan-9-ol (**S13**), leucotrichoic acid (**S14**), leucotrichol (**S15**), 11-*epi*-subergorgiol (**S16**), leucotrichanal (**S17**), 11-*epi*-silphiperfolenal (**S18**), cedrol (**S19**), 2,6,7-tri-*epi*-cedrol (**S20**), hederagenin (**S21**), 23-hydroxyursolic acid (**S22**), betulinic acid (**S23**), halleridone (**S24**), cleroindicin B (**S25**), cleroindicin C (**S26**), cornoside (**S27**), methyl 4-hydroxybenzoate (**S28**), ethyl 4-hydroxybenzoate (**S29**), ethylglucoside (**S30**), calceolarioside B (**S31**), calceolarioside A (**S32**), plantainoside A (**S33**), conandroside (**S34**), and isoverbascoside (**S35**). Additionally, GC-MS analysis of the fractions from *S. canescens*, lead to identification of more 39 sesquiterpenes, highlighting: α -cedrene, 2-*epi*-funebrene, β -cedrene and β -santalene. Compounds **S2**, **S3**, **S4**, **S5**, **S6**, **S7**, **S8**, **S9**, **S11**, **S12**, **S14**, **S15**, **S16**, **S17**, **S18** and **S20** are new. Ethanolic extracts, fractions and isolated substances were tested against several human tumor cell lines using the sulphorhodamin B method. The level of activity of the extracts was determined as the concentration that caused total growth inhibition of the cells (TGI). *S. canescens* ethanolic extract inhibited mainly the growth of MCF-7 (breast) and NCI-ADR/RES (ovary resistant to multiple drugs) cell lines, with TGI values of 27.82 and 28.87 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectively. On the other hand, *S. leucotricha* extract showed a strong activity against leukemia (K562 - TGI 0.36 $\mu\text{g mL}^{-1}$) cell lines. Among isolated compounds, **S1**, **S14**, **S16**, **S25**, **S26** and **S31** were tested. **S1** was the most active, inhibiting the growth of melanoma (UACC-62), glioma (U251), breast (MCF-7), ovary resistant to multiple drugs (NCI-ADR/RES), kidney (786-0), lung (NCI-H460), prostate (PC-3), and leukemia (K562) cell lines, with TGI values varying from 4.58 to 31.31 $\mu\text{g mL}^{-1}$. The others were inactive (TGI > 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

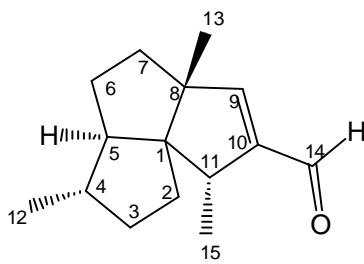
Key words: Gesneriaceae, *Sinningia leucotricha*, *S. canescens*, naphthoquinones, sesquiterpenes, phenolic glycosides, cytotoxic activity.

ESTRUTURAS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS

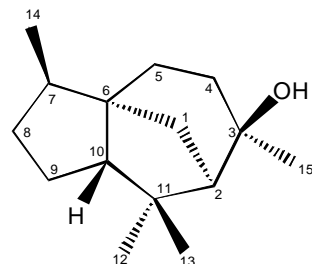




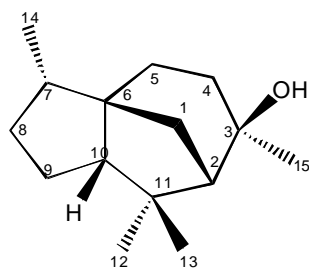
S17



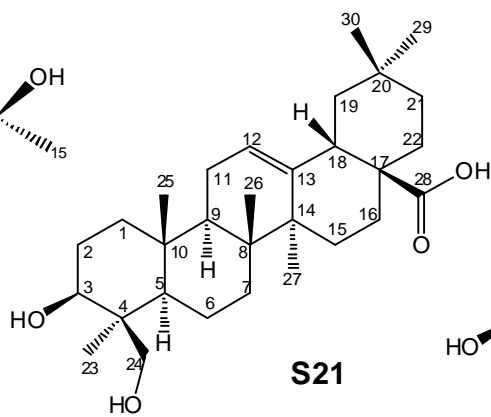
S18



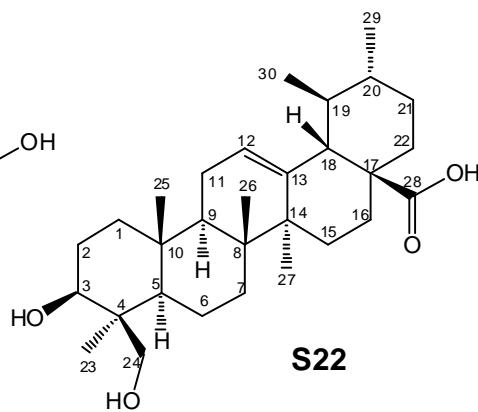
S19



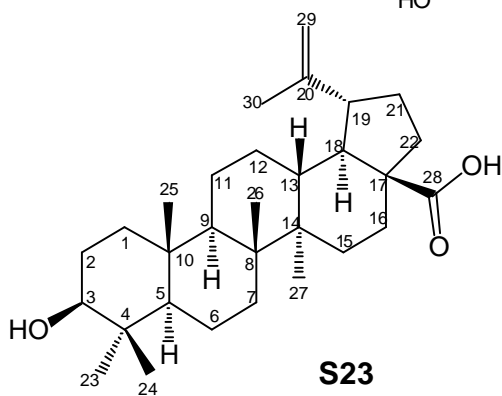
S20



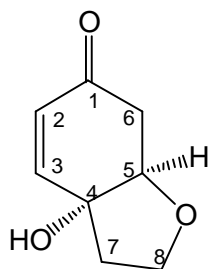
S21



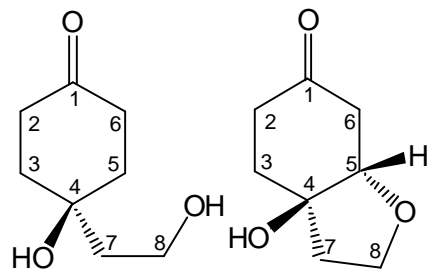
S22



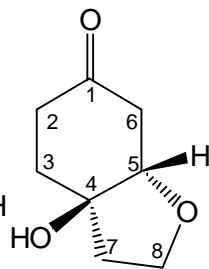
S23



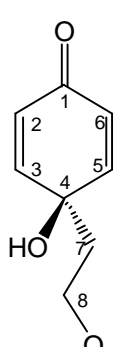
S24



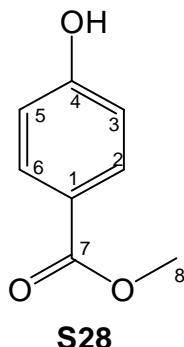
S25



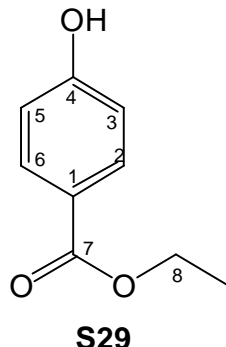
S26



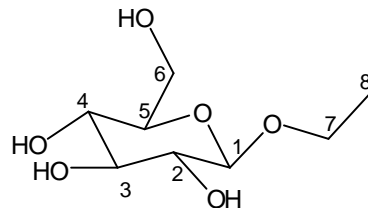
S27



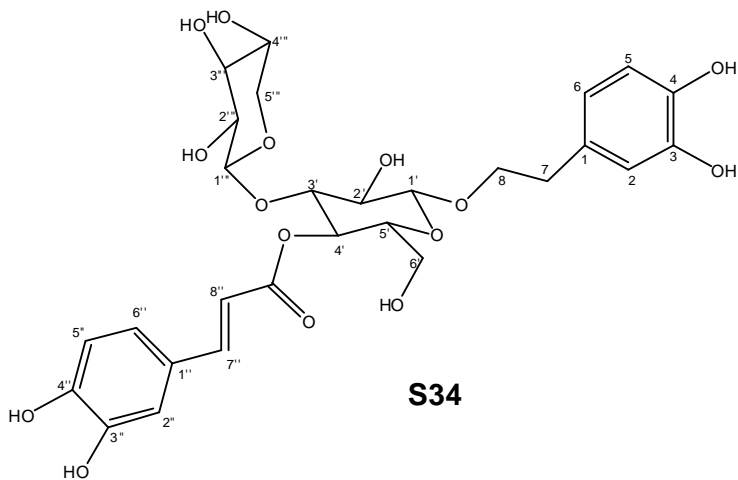
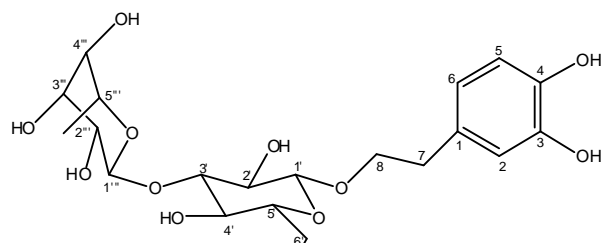
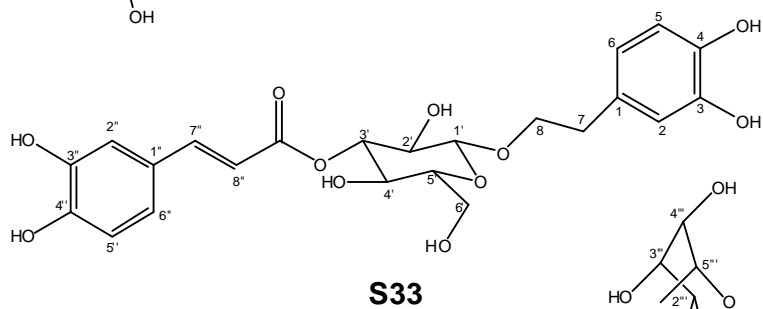
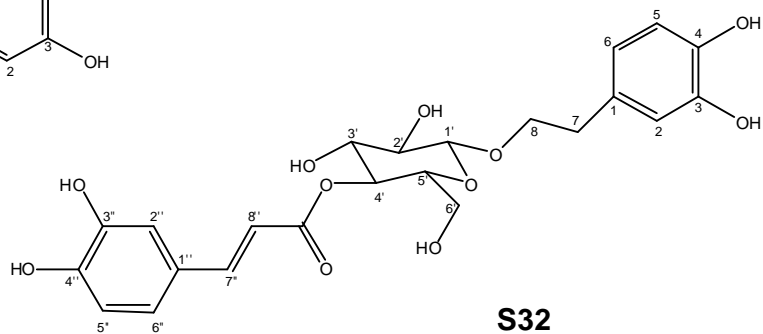
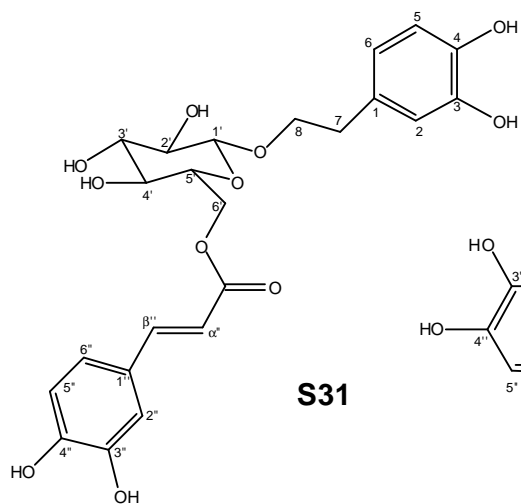
S28



S29



S30



**OS RESULTADOS PARCIAIS DESTA PESQUISA FORAM DESCRITOS NOS
SEGUINTE ARTIGOS**

VERDAN, M. H.; UNEMOTO, L. K.; FARIA, R. T.; SALVADOR, M. J.; DE SÁ, E. L.; BARISON, A.; STEFANELLO, M. E. A. Leucotrichoic acid, a novel sesquiterpene from *Sinningia leucotricha* (Gesneriaceae). **Tetrahedron Letters**, v. 54, n. 35, p. 4735-4737, 2013.

VERDAN, M. H.; EHRENFRIED, C. A.; SCHARF, D. R.; CERVI, A.; BARISON, A.; SALVADOR, M. J.; STEFANELLO, M. É. A. Chemical Constituents from *Sinningia canescens* and *S. warmingii*. **Natural Product Communications**, v. 9, n. 10, p. 3, 2014.

VERDAN, M. H.; KOOLEN, H.; SALVADOR, M. J.; BARISON, A.; STEFANELLO, M. A new naphthoquinone from *Sinningia leucotricha* (Gesneriaceae). **Natural Product Communications**, v. 10, n. 4, p. 625-626, 2015.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01. Exemplos de espécies pertencentes aos dez maiores gêneros da família Gesneriaceae.	40
FIGURA 02. Densidade populacional de espécies de Gesneriaceae nas Américas Central e do Sul.....	40
FIGURA 03. Exemplos da espécie mais cultivada de Gesneriaceae, <i>Saintpaulia ionantha</i>	41
FIGURA 04. Quinonas (4-8) isoladas de Gesneriaceae (2012-2015).	44
FIGURA 05. Fenólicos (1-3, 9, 19-22, 27-28, 31, 35-36) isolados de Gesneriaceae (2012-2015).....	45
FIGURA 06. Flavonóides (10-11, 14-18, 32-34), esteróide (12) e terpenos (13, 23-26, 29-30) isolados de Gesneriaceae (2012-2015).	46
FIGURA 07. Exemplar de gloxínia (<i>Sinningia speciosa</i>).	47
FIGURA 08. Constituintes voláteis de <i>S. tubiflora</i> (37) e <i>S. aggregata</i> (38-40).....	49
FIGURA 09. ϵ -lactonas aromáticas e hidronaftoquinonas isoladas de <i>S. aggregata</i> (41-43, 44-46) e <i>S. warmingii</i> (43, 46).....	50
FIGURA 10. Quinonas (47-53, 58, 74) e cromenos (59-60) isolados de espécies de <i>Sinningia speciosa</i> , <i>S. aggregata</i> e <i>S. allagophylla</i>	50
FIGURA 11. Etilcicloexanóides (54-55 E 72-73) isolados de espécies de <i>Sinningia speciosa</i> e <i>S. aggregata</i>	51
FIGURA 12. Flavonóides de <i>S. cardinalis</i> (65-69) e fenólicos (56-57 e 70-71) isolados de espécies de <i>Sinningia cardinallis</i> e <i>Sinningia aggregata</i>	51
FIGURA 13. Esteróides de <i>S. speciosa</i> (75-76), <i>S. allagophylla</i> (61-64) e <i>S. warmingii</i> (75-76).....	52
FIGURA 14. Exemplos de <i>S. leucotricha</i> (A) e <i>S. canescens</i> (B).	53
FIGURA 15. Estágios de crescimento de <i>S. leucotricha</i> (esquerda) e <i>S. canescens</i> (direita) (A e B - tubérculo; C e D - broto; E e F - botão; G e H - flor).	55
FIGURA 16. Espectro de RMN de ^1H de S1 (CDCl_3 , 200 MHz).	97
FIGURA 17. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de S1 (CDCl_3 , 400 MHz).	98
FIGURA 18. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S1 (CDCl_3 , 400 MHz).	98

FIGURA 19. Espectro de massas de alta resolução no modo positivo ($[M+H]^+$) de S1	99
FIGURA 20. Principais correlações observadas no mapa de correlação $^1H-^{13}C$ a longa distância de S1	99
FIGURA 21. Espectro de RMN de 1H de S2 ($CDCl_3$, 200 MHz).	100
FIGURA 22. Espectro de RMN de $^{13}C\{^1H\}$ de S2 ($CDCl_3$, 50 MHz).	101
FIGURA 23. Mapa de correlação direta $^1H-^{13}C$ de S2 ($CDCl_3$, 400 MHz).	101
FIGURA 24. Mapa de correlação $^1H-^{13}C$ a longa distância de S2 ($CDCl_3$, 400 MHz).	102
FIGURA 25. Espectro de massas de alta resolução no modo positivo ($[M+H]^+$) de S2	102
FIGURA 26. Principais correlações observadas no mapa de correlação $^1H-^{13}C$ a longa distância de S2	102
FIGURA 27. Espectro de RMN de 1H de S3 com ampliações ($CDCl_3$, 600 MHz). ...	104
FIGURA 28. Mapa de correlação direta $^1H-^{13}C$ de S3 ($CDCl_3$, 400 MHz).	104
FIGURA 29. Mapa de correlação $^1H-^{13}C$ a longa distância de S3 ($CDCl_3$, 600 MHz).	105
FIGURA 30. Espectro de massas de alta resolução no modo positivo ($[M+H]^+$) de S3	105
FIGURA 31. Principais correlações observadas no mapa de correlação $^1H-^{13}C$ a longa distância de S3	105
FIGURA 32. Espectro de RMN de 1H de S4 com ampliação ($CDCl_3$, 400 MHz).	107
FIGURA 33. Espectro de RMN de $^{13}C\{^1H\}$ de S4 ($CDCl_3$, 50 MHz).	107
FIGURA 34. Mapa de correlação direta $^1H-^{13}C$ de S4 ($CDCl_3$, 400 MHz).	108
FIGURA 35. Mapa de correlação $^1H-^{13}C$ a longa distância de S4 ($CDCl_3$, 400 MHz).	108
FIGURA 36. Espectro de massas de alta resolução no modo positivo ($[M+H]^+$) de S4	109
FIGURA 37. Principais correlações observadas no mapa de correlação $^1H-^{13}C$ a longa distância de S4	109
FIGURA 38. Espectro de RMN de 1H de S5 com ampliações ($CDCl_3$, 400 MHz). ...	110
FIGURA 39. Mapa de correlação direta $^1H-^{13}C$ de S5 ($CDCl_3$, 400 MHz).	111
FIGURA 40. Mapa de correlação $^1H-^{13}C$ a longa distância de S5 ($CDCl_3$, 400 MHz).	111

FIGURA 41. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S5 .	112
FIGURA 42. Espectro de RMN de ^1H de S6 com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz).	113
FIGURA 43. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de S6 (CDCl_3 , 50 MHz).	114
FIGURA 44. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de S6 (CDCl_3 , 400 MHz).	114
FIGURA 45. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S6 (CDCl_3 , 400 MHz).	115
FIGURA 46. NOE irradiando o hidrogênio em δ 1,24 (H-4') de S6 (CDCl_3 , 400 MHz).	115
FIGURA 47. Espectro de massas de alta resolução no modo positivo ($[\text{M}+\text{H}]^+$) de S6 .	116
FIGURA 48. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S6 .	116
FIGURA 49. Espectro de RMN de ^1H de S7 com ampliações (CDCl_3 , 600 MHz).	119
FIGURA 50. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de S7 (CDCl_3 , 600 MHz).	119
FIGURA 51. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S7 (CDCl_3 , 600 MHz).	120
FIGURA 52. Espectro de massas de alta resolução no modo positivo ($[\text{M}+\text{H}]^+$) de S7 .	120
FIGURA 53. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S7 .	120
FIGURA 54. Espectro de RMN de ^1H de S8 com ampliações (CDCl_3 , 600 MHz).	122
FIGURA 55. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de S8 (CDCl_3 , 600 MHz).	122
FIGURA 56. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S8 (CDCl_3 , 600 MHz).	123
FIGURA 57. Espectro de massas de alta resolução no modo positivo ($[\text{M}+\text{H}]^+$) de S8 .	123
FIGURA 58. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S8 .	123
FIGURA 59. Espectro de RMN de ^1H de S9 com ampliações (CDCl_3 , 600 MHz).	126
FIGURA 60. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de S9 (CDCl_3 , 600 MHz).	126
FIGURA 61. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S9 (CDCl_3 , 600 MHz).	127

FIGURA 62. Espectro de massas de baixa resolução no modo positivo ($[M+H]^+$) de S9	127
FIGURA 63. Principais correlações observadas no mapa de correlação $^1H-^{13}C$ a longa distância de S9	128
FIGURA 64. Espectros de RMN de 1H de S10 com ampliação ($CDCl_3$, 400 MHz). 130	
FIGURA 65. Mapa de correlação direta $^1H-^{13}C$ de S10 ($CDCl_3$, 400 MHz).	130
FIGURA 66. Mapa de correlação $^1H-^{13}C$ a longa distância de S10 ($CDCl_3$, 400 MHz).	131
FIGURA 67. Principais correlações observadas no mapa de correlação $^1H-^{13}C$ a longa distância de S10	132
FIGURA 68. Espectro de RMN de 1H de S11 com ampliações ($CDCl_3$, 400 MHz). 133	
FIGURA 69. Mapa de correlação direta $^1H-^{13}C$ de S11 ($CDCl_3$, 400 MHz).	134
FIGURA 70. Mapa de correlação $^1H-^{13}C$ a longa distância de S11 ($CDCl_3$, 600 MHz).	134
FIGURA 71. Espectro de massas de alta resolução no modo positivo ($[M+H]^+$) de S11	135
FIGURA 72. Principais correlações observadas no mapa de correlação $^1H-^{13}C$ a longa distância de S11	135
FIGURA 73. Espectro de RMN de 1H de S12 com ampliações ($CDCl_3$, 400 MHz). 136	
FIGURA 74. Mapa de correlação direta $^1H-^{13}C$ de S12 ($CDCl_3$, 400 MHz).	137
FIGURA 75. Mapa de correlação $^1H-^{13}C$ a longa distância de S12 ($CDCl_3$, 400 MHz).	137
FIGURA 76. Espectro de massas de alta resolução no modo positivo ($[M+Li]^+$) de S12	138
FIGURA 77. Principais correlações observadas no mapa de correlação $^1H-^{13}C$ a longa distância de S12	139
FIGURA 78. Espectro de RMN de 1H de S13 com ampliações ($CDCl_3$, 400 MHz). 141	
FIGURA 79. Espectro de RMN de $^{13}C\{^1H\}$ sobreposto com o DEPT-135 de S13 ($CDCl_3$, 50 MHz).....	141
FIGURA 80. Mapa de correlação direta $^1H-^{13}C$ de S13 ($CDCl_3$, 400 MHz).	142
FIGURA 81. Mapa de correlação $^1H-^{13}C$ a longa distância de S13 ($CDCl_3$, 400 MHz).	142
FIGURA 82. Principais correlações observadas no mapa de correlação $^1H-^{13}C$ a longa distância de S13	143

FIGURA 83. Formação do esqueleto leucotrichano a partir do presilphiperfolano..	144
FIGURA 84. Principais conformações de S14 (B é a menos energética).	146
FIGURA 85. Espectro de RMN de ^1H de S14 com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz). 146	
FIGURA 86. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ sobreposto com DEPT-135 de S14 (CDCl_3 , 50 MHz).....	147
FIGURA 87. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de S14 com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz).....	147
FIGURA 88. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S14 (CDCl_3 , 400 MHz).	148
FIGURA 89. NOE de S14 irradiando o hidrogênio em δ 1,40 (H-8) (CDCl_3 , 400 MHz).	148
FIGURA 90. NOE de S14 irradiando o hidrogênio em δ 1,89 (H-9) (CDCl_3 , 400 MHz).	149
FIGURA 91. Espectro de massas de alta resolução no modo positivo ($[\text{M}+\text{H}]^+$) de S14	149
FIGURA 92. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S14	149
FIGURA 93. Espectro de RMN de ^1H de S15 com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz). 151	
FIGURA 94. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de S15 com ampliação (CDCl_3 , 400 MHz).....	151
FIGURA 95. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S15 (CDCl_3 , 400 MHz).	152
FIGURA 96. Espectro de massas de alta resolução no modo positivo ($[\text{M}+\text{H}]^+$) de S15	152
FIGURA 97. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S15	153
FIGURA 98. Espectro de RMN de ^1H de S16 com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz). 155	
FIGURA 99. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ sobreposto com DEPT-135 de S16 (CDCl_3 , 50 MHz).....	156
FIGURA 100. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de S16 com ampliação (CDCl_3 , 400 MHz).....	156
FIGURA 101. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S16 (CDCl_3 , 400 MHz).....	157

FIGURA 102. NOE de S16 irradiando o hidrogênio em δ 1,85 (H-5) (CDCl_3 , 400 MHz).....	157
FIGURA 103. NOE de S16 irradiando o hidrogênio em δ 2,80 (H-11) (CDCl_3 , 400 MHz).....	158
FIGURA 104. Espectro de massas de alta resolução no modo positivo ($[\text{M}+\text{H}]^+$) de S16	158
FIGURA 105. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S16	159
FIGURA 106 .Espectro de RMN de ^1H de S17 + S18 com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz).....	161
FIGURA 107. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de S17 + S18 (CDCl_3 , 400 MHz). 162	
FIGURA 108. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S17 + S18 (CDCl_3 , 400 MHz).....	162
FIGURA 109. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S17 + S18	163
FIGURA 110. Espectro de RMN de ^1H de S19 + S20 com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz).....	165
FIGURA 111. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ sobreposto com DEPT-135 de S19 + S20 (CDCl_3 , 50 MHz).....	166
FIGURA 112. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de S19 + S20 (CDCl_3 , 400 MHz). 166	
FIGURA 113. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S19 + S20 (CDCl_3 , 400 MHz).....	167
FIGURA 114. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S19 + S20	167
FIGURA 115. Cromatogramas das substâncias S13 , S15 e S16	171
FIGURA 116. Propostas de fragmentação do íon m/z 220 para formação dos íons m/z 202 e 189 de S16	172
FIGURA 117. Cromatogramas das substâncias S17 + S18 , e S19 + S20	173
FIGURA 118. Espectros de massas referente às substâncias S13 , S15 , S16 , S17 + S18 , S19 e S20	174
FIGURA 119. Espectro de RMN de ^1H de S21 + S22 com ampliações (CDCl_3 +MeOD, 400 MHz).	176
FIGURA 120. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de S21 + S22 (CDCl_3 +MeOD, 50 MHz).	176

FIGURA 121. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de S21 + S22 (CDCl_3 +MeOD, 400 MHz).....	177
FIGURA 122. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S21 + S22 (CDCl_3 +MeOD, 400 MHz).	177
FIGURA 123. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S21	178
FIGURA 124. Espectro de RMN de ^1H de S23 com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz).	180
FIGURA 125. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de S23 (CDCl_3 , 400 MHz).	181
FIGURA 126. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S23 (CDCl_3 , 400 MHz).....	181
FIGURA 127. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S23	183
FIGURA 128. Espectro de RMN de ^1H de S24 com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz).	185
FIGURA 129. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e DEPT-135 sobrepostos de S24 (CDCl_3 , 50 MHz).....	186
FIGURA 130. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de S24 (CDCl_3 , 400 MHz).	186
FIGURA 131. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S24 (CDCl_3 , 400 MHz).....	187
FIGURA 132. NOE de S24 irradiando o hidrogênio em δ 4,25 (H-5) (CDCl_3 , 400 MHz).....	187
FIGURA 133. NOE de S24 irradiando o hidrogênio em δ 6,77 (H-3) (CDCl_3 , 400 MHz).....	188
FIGURA 134. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S24	188
FIGURA 135. Espectro de massas de baixa resolução de S24	188
FIGURA 136. Espectro de RMN de ^1H de S25 com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz).	190
FIGURA 137. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de S25 (CDCl_3 , 50 MHz).	190
FIGURA 138. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de S25 (CDCl_3 , 400 MHz).	191
FIGURA 139. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S25 (CDCl_3 , 400 MHz).....	191

FIGURA 140. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S25	192
FIGURA 141. Espectro de massas de baixa resolução de S25	192
FIGURA 142. Espectro de RMN de ^1H de S26 com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz).	193
FIGURA 143. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e DEPT-135 sobrepostos de S26 (CDCl_3 , 50 MHz).....	194
FIGURA 144. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de S26 (CDCl_3 , 400 MHz).	194
FIGURA 145. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S26 (CDCl_3 , 400 MHz).....	195
FIGURA 146. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S26	195
FIGURA 147. Espectro de massas de baixa resolução de S26	195
FIGURA 148. Espectro de RMN de ^1H de S27 com ampliações (MeOD , 400 MHz).	198
FIGURA 149. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e DEPT-135 sobrepostos de S27 (MeOD , 50 MHz).....	199
FIGURA 150. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de S27 (MeOD , 400 MHz).....	199
FIGURA 151. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S27 (MeOD , 400 MHz).....	200
FIGURA 152. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S27	201
FIGURA 153. Espectro de RMN de ^1H de S28 com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz).	203
FIGURA 154. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de S28 (CDCl_3 , 400 MHz).	203
FIGURA 155. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S28 (CDCl_3 , 400 MHz).....	204
FIGURA 156. Espectro de RMN de ^1H de S29 com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz).	204
FIGURA 157. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de S29 (CDCl_3 , 400 MHz).	205
FIGURA 158. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S29 (CDCl_3 , 400 MHz).....	205
FIGURA 159. Principais correlações observadas nos mapas de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S28 e S29	206

FIGURA 160. Espectro de massas de baixa resolução no modo negativo ($[M-H]^-$) de S28	207
FIGURA 161. Espectro de massas da fragmentação do íon molecular de S28 (MS^2).	207
FIGURA 162. Espectro de massas da fragmentação do íon m/z 135,83 ($[M-CH_3]^-$) de S28 (MS^3)......	207
FIGURA 163. Espectro de massas de baixa resolução no modo negativo ($[M-H]^-$) de S29	208
FIGURA 164. Espectro de massas da fragmentação do íon molecular de S29 (MS^2).	208
FIGURA 165. Espectro de massas da fragmentação do íon m/z 136,90 ($[M-C_2H_4]^-$) de S29 (MS^3)......	208
FIGURA 166. Espectro de RMN de 1H de S30 com ampliações (MeOD, 400 MHz).	210
FIGURA 167. Espectro de RMN de $^{13}C\{^1H\}$ de S30 (MeOD, 50 MHz).....	210
FIGURA 168. Mapa de correlação direta $^1H-^{13}C$ de S30 (MeOD, 400 MHz).....	211
FIGURA 169. Mapa de correlação $^1H-^{13}C$ a longa distância de S30 (MeOD, 400 MHz).....	211
FIGURA 170. Principais correlações observadas nos mapas de correlação $^1H-^{13}C$ a longa distância de S30	212
FIGURA 171. Espectro de RMN de 1H de S31 (MeOD, 400 MHz).	214
FIGURA 172. Ampliação da região entre δ 7,66 e 6,15 do espectro de RMN de 1H de S31 (MeOD, 400 MHz).....	214
FIGURA 173. Ampliação da região entre δ 4,63 e 2,62 do espectro de RMN de 1H de S31 (MeOD, 400 MHz).....	215
FIGURA 174. Espectro de RMN de $^{13}C\{^1H\}$ de S31 (MeOD, 50 MHz).....	215
FIGURA 175. Mapa de correlação direta $^1H-^{13}C$ de S31 (MeOD, 400 MHz).....	216
FIGURA 176. Mapa de correlação $^1H-^{13}C$ a longa distância de S31 (MeOD, 400 MHz).....	216
FIGURA 177. Principais correlações observadas nos mapas de correlação $^1H-^{13}C$ a longa distância de S31	217
FIGURA 178. Espectro de RMN de 1H de S32 + S33 (MeOD, 400 MHz).....	218
FIGURA 179. Mapa de correlação direta $^1H-^{13}C$ de S32 + S33 (MeOD, 400 MHz).219	

FIGURA 180. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S32 + S33 (MeOD, 400 MHz).....	219
FIGURA 181. Principais correlações observadas nos mapas de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S32 e S33	220
FIGURA 182. Espectro de RMN de ^1H de S34 com ampliações (MeOD, 400 MHz).	223
FIGURA 183. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de S34 (MeOD, 50 MHz).....	224
FIGURA 184. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de S34 (MeOD, 400 MHz).....	224
FIGURA 185. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S34 (MeOD, 400 MHz).....	225
FIGURA 186. Principais correlações observadas nos mapas de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S34	225
FIGURA 187. Espectro de RMN de ^1H de S34 + S35 com ampliações (MeOD, 400 MHz).....	227
FIGURA 188. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de S34 + S35 (MeOD, 400 MHz).227	
FIGURA 189. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S34 + S35 (MeOD, 400 MHz).....	228
FIGURA 190. Principais correlações observadas nos mapas de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de S35	228
FIGURA 191. Espectro de massas no modo negativo ($[\text{M-H}]^-$) de S34 + S35	230
FIGURA 192. Espectro de massas da fragmentação do íon molecular de S34 (MS^2).	230
FIGURA 193. Espectro de massas da fragmentação do íon m/z 447,07 ($[\text{M-C}_9\text{H}_6\text{O}_3]^-$) de S34 (MS^3)......	231
FIGURA 194. Espectro de massas da fragmentação do íon m/z 314,92 ($[\text{M-C}_5\text{H}_8\text{O}_4]^-$) de S34 (MS^4)......	231
FIGURA 195. Espectro de massas da fragmentação do íon molecular de S35 (MS^2).	231
FIGURA 196. Espectro de massas da fragmentação do íon m/z 461,07 ($[\text{M-C}_9\text{H}_6\text{O}_3]^-$) de S35 (MS^3)......	232
FIGURA 197. Espectro de massas da fragmentação do íon m/z 315,11 ($[\text{M-C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4]^-$) de S35 (MS^4)......	232
FIGURA 198. Fragmentação de massas proposta para S35	232

FIGURA 199. Espectro de RMN de ^1H do extrato em hexano de <i>S. canescens</i> (SCA) (CDCl_3 , 200 MHz).....	234
FIGURA 200. Cromatograma de SCA (antes de 22,5 min. e depois de 47,5 min. não há picos).....	234
FIGURA 201. Espectro de RMN de ^1H de SCA-I (CDCl_3 , 200 MHz).....	236
FIGURA 202. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de SCA-I (CDCl_3 , 50 MHz).	237
FIGURA 203. Cromatograma de SCA-I	237
FIGURA 204. Sesquiterpenos com esqueleto cedrano identificados em <i>S. canescens</i>	239
FIGURA 205. Sesquiterpenos com esqueleto cadinano identificados em <i>S. canescens</i>	240
FIGURA 206. Sesquiterpenos com esqueletos diversos identificados em <i>S. canescens</i>	241
FIGURA 207. Cromatogramas das substâncias isoladas S1 , S2 , S3 , S6 , S24 , S25 , S26 e S31 no gradiente linear exploratório de metanol, com seus respectivos tempos de eluição.	243
FIGURA 208. Comparação dos cromatogramas das frações SCB-IX-A, SCB-IX-B e SCB-IX-C e da substância S9 no método isocrático de $\text{H}_2\text{O}:\text{ACN}/20:80$ e fluxo de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$, com identificação dos compostos isolados.....	244
FIGURA 209. Espectros de UV obtidos dos cromatogramas das substâncias S1 , S2 , S3 , S6 , S24 , S25 , S26 e S31	245
FIGURA 210. Espectros de UV obtidos dos cromatogramas das substâncias S4 , S7 , S8 , S9 , S11 , S28 e S29	246
FIGURA 211. Comparação dos cromatogramas dos extratos em hexano das três coletas dos tubérculos de <i>S. leucotricha</i> no gradiente exploratório linear de metanol em 254 nm (entre 0 e 30 minutos não há picos).	247
FIGURA 212. Cromatograma do extrato em hexano das folhas de <i>S. leucotricha</i> no gradiente exploratório linear de metanol em 254 nm (entre 0 e 18 minutos não há picos).....	247
FIGURA 213. Cromatograma do extrato em hexano dos tubérculos de <i>S. canescens</i> no gradiente exploratório linear de metanol em 254 nm.	248
FIGURA 214. Comparação dos cromatogramas dos extratos em diclorometano das três coletas dos tubérculos de <i>S. leucotricha</i> no gradiente exploratório linear de metanol em 254 nm.....	249

FIGURA 215. Cromatograma do extrato em diclorometano das folhas de <i>S. leucotricha</i> no gradiente exploratório de metanol em 254 nm.	249
FIGURA 216. Cromatograma do extrato em diclorometano dos tubérculos de <i>S. canescens</i> no gradiente exploratório linear de metanol em 254 nm.	250
FIGURA 217. Comparação dos Cromatogramas dos extratos em acetato de etila (SLA4 e SLC3) ou acetona (SLB3) das três coletas dos tubérculos de <i>S. leucotricha</i>	251
FIGURA 218. Cromatograma do extrato em acetato de etila dos tubérculos de <i>S. canescens</i> no gradiente exploratório linear de metanol em 254 nm.	252
FIGURA 219. Comparação dos cromatogramas dos extratos em metanol (SLA5) ou etanol (SLB4 e SLC4) das três coletas dos tubérculos de <i>S. leucotricha</i> no gradiente exploratório linear de metanol em 254 nm.	253
FIGURA 220. Cromatograma do extrato em etanol das folhas de <i>S. leucotricha</i> no gradiente exploratório de metanol em 254 nm.	253
FIGURA 221. Cromatograma do extrato em etanol dos tubérculos de <i>S. canescens</i> no gradiente exploratório linear de metanol em 254 nm.	254
FIGURA 222. Cromatogramas das frações em 1-butanol (SCD e SCE) dos tubérculos de <i>S. canescens</i> no gradiente exploratório linear de metanol em 254 nm.	255
FIGURA 223. Comparação dos espectros de RMN de ^1H da substância S34 com as frações butanólicas de <i>S. canescens</i> SCD e SCE (MeOD, 200 MHz).	255
FIGURA 224. Comparação dos espectros de RMN de ^1H dos extratos dos tubérculos de <i>S. leucotricha</i> (200 MHz, CDCl_3 ou MeOD).	256
FIGURA 225. Comparação dos espectros de RMN de ^1H dos extratos dos tubérculos de <i>S. canescens</i> (200 MHz, CDCl_3 ou MeOD).	257
FIGURA 226. Estruturas da sulforrodanina B (A) e doxorubicina (B).	260
FIGURA 227. Formação do ácido isocorísmico, um intermediário na biossíntese das naftoquinonas (DEWICK, 1997).	263
FIGURA 228. Formação do ácido 1,4-diidroxinaftóico, precursor biossintético das naftoquinonas (DEWICK, 1997).	264
FIGURA 229. Rota biossintética de algumas naftoquinonas a partir do ácido 1,4-diidroxinaftóico.	265
FIGURA 230. Proposta biogenética para as naftoquinonas S1 , S2 , S3 , S4 , S5 , S7 e S9 a partir da α -dunniona.	266

FIGURA 231. Proposta para as reações de O-metilação com auxílio da SAM.	267
FIGURA 232. Proposta biogenética para a naftoquinona S6 a partir da dunniona.	267
FIGURA 233. Proposta biogenética para a naftoquinona S8 a partir do 2-hidroxi-3-(1,1-dimetilalil)-1,4-naftoquinona.	267
FIGURA 234. Biossíntese do malonil-CoA (a), da floracetofenona (b) e do ácido <i>p</i> -cumárico (c).	269
Figura 235. Possível biogênese dos benzofuranos S11 e S12	270
FIGURA 236. Proposta biogenética para os leucotrichanos S14 , S15 e S17	272
FIGURA 237. Proposta biogenética para os presilphiperfolanos S16 e S18 a partir do cátion presilphiperfolanila.	273
FIGURA 238. Proposta biogenética para os sesquiterpenos S19 e S20 a partir do difosfato de farnesila.	274

LISTA DE TABELAS

TABELA 01. ESTUDOS QUÍMICOS RECENTES COM GESNERIACEAE (2012-2015), COM EXCEÇÃO DO GÊNERO <i>Sinningia</i>	43
TABELA 02. SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Sinningia</i> . .	48
TABELA 03. EXTRATOS OBTIDOS DE <i>S. leucotricha</i> (SLA) E SEUS RENDIMENTOS A PARTIR DOS TUBÉRCULOS SECOS.....	61
TABELA 04. EXTRATOS OBTIDOS DE <i>S. leucotricha</i> (SLB) E SEUS RENDIMENTOS A PARTIR DOS TUBÉRCULOS SECOS.....	61
TABELA 05. EXTRATOS OBTIDOS DE <i>S. leucotricha</i> (SLC) E SEUS RENDIMENTOS A PARTIR DOS TUBÉRCULOS SECOS.....	62
TABELA 06. FRAÇÕES OBTIDAS DE <i>S. canescens</i> (SC) E SEUS RENDIMENTOS A PARTIR DO EXTRATO ETANÓLICO TOTAL.	62
TABELA 07. RENDIMENTO DAS FRAÇÕES DOS EXTRATOS EM ÉTER DE PETRÓLEO E ACETATO DE ETILA REUNIDOS (SLA).....	63
TABELA 08. FRACIONAMENTO DA FRAÇÃO SLA2.....	64
TABELA 09. FRACIONAMENTO DA FRAÇÃO SLA3, RENDIMENTOS E SUBSTÂNCIAS ISOLADAS.	66
TABELA 10. FRACIONAMENTO DA FRAÇÃO SLB1 COM AS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS.	68
TABELA 11. FRACIONAMENTO DA FRAÇÃO SLB22 COM AS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS.	70
TABELA 12. FRACIONAMENTO DO EXTRATO EM ACETONA (SLB3) COM AS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS.	71
TABELA 14. FRACIONAMENTO DO EXTRATO SLC3 COM AS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS.	75
TABELA 15. FRACIONAMENTO DA FRAÇÃO SCA COM AS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS.	78
TABELA 16. FRACIONAMENTO DA FRAÇÃO SCB COM AS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS.	81
TABELA 17. MÉTODO DO GRADIENTE EXPLORATÓRIO DE METANOL.	85
TABELA 18. SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE <i>Sinningia canescens</i> (SC) E <i>S. leucotricha</i> (SL) COM SUAS RESPECTIVAS MASSAS.	94

TABELA 19. DADOS DE RMN DE ^1H E $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DE S1 (CDCl_3 , 400 MHz) E COMPARAÇÃO COM DADOS DA LITERATURA (ACETONA- D_6 , 500 MHz) (CAI <i>et al.</i> , 2005).	97
TABELA 20. DADOS DE RMN DE $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DE S2 , S3 , S4 , S5 E S6 (CDCl_3).	116
TABELA 21. DADOS DE RMN DE ^1H E HMBC DAS SUBSTÂNCIAS S2 , S3 , S4 , S5 E S6 (CDCl_3).	117
TABELA 22. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DAS SUBSTÂNCIAS S7 E S8 (CDCl_3 , 600 MHz).	124
TABELA 23. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DA SUBSTÂNCIA S9 (CDCl_3 , 600 MHz).	128
TABELA 24. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DA SUBSTÂNCIA S10 (CDCl_3 , 400 MHz).	131
TABELA 25. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DE S11 E S12 (CDCl_3 , 400 MHz).	138
TABELA 26. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DE S13 (CDCl_3 , 400 MHz) E COMPARAÇÃO COM DADOS DA LITERATURA (ALBERTO MARCO <i>et al.</i> , 1996).	143
TABELA 27. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DAS SUBSTÂNCIAS S14 E S15 (CDCl_3 , 400 MHz).	153
TABELA 28. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DE S16 (CDCl_3 , 400 MHz) E COMPARAÇÃO COM DADOS DA LITERATURA (CDCl_3 , 500 MHz) (WANG <i>et al.</i> , 2002).	159
TABELA 29. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DE S17 E S18 (CDCl_3 , 400 MHz).	163
TABELA 30. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DE S19 E S20 (CDCl_3 , 600 MHz).	168
TABELA 31. DADOS DE RMN DE ^1H E $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DE S21 E S22 (CDCl_3 + MeOD, 50 MHz).	178
TABELA 32. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DE S23 (CDCl_3 , 400 MHz).	182
TABELA 33. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DAS SUBSTÂNCIAS S24 , S25 E S26 (CDCl_3 , 400 MHz).	196
TABELA 34. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DE S27 (MeOD, 400 MHz).	200

TABELA 35. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DE S28 E S29 (CDCl_3 , 400 MHz).....	202
TABELA 36. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DE S30 (MeOD, 400 MHz).	209
TABELA 37. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DAS SUBSTÂNCIAS S31 , S32 E S33 (MeOD, 400 MHz).	221
TABELA 38. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DE S34 E S35 (MeOD, 400 MHz).....	229
TABELA 39. COMPOSIÇÃO VOLÁTIL DO EXTRATO HEXÂNICO DE <i>S. canescens</i> (SCA).	235
TABELA 40. COMPOSIÇÃO DO ÓLEO DA FRAÇÃO SCA-I DO EXTRATO HEXÂNICO DE <i>S. canescens</i>	238
TABELA 41. DADOS DE ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA DE <i>S. leucotricha</i> , <i>S. canescens</i> E DAS SUBSTÂNCIAS S1 E S31	261

LISTA DE ABREVIATURAS

Dr.	Doutor
min.	minutos
N.C.	Não consta
N.D.	Não determinado
N.O.	Não observado
N.T.	Não testado
Prof.	Professor
spp	Espécie

LISTA DE SIGLAS

ACN	Acetonitrila
AcOEt	Acetato de etila
ANOVA	Análise de variância
ATP	Trifosfato de adenosina
CC	Cromatografia clássica em coluna aberta
CCDA	Cromatografia em camada delgada analítica
CCDP	Cromatografia em camada delgada preparativa
CG	Cromatografia gasosa
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
CG-DIC	Cromatografia gasosa com detector por ionização de chama
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CLAE-DAD	Cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos
CLV	Cromatografia líquida em coluna sob vácuo
CoA	Coenzima A
DC	Dicroísmo circular
DCM	Diclorometano
DEPT-135	<i>Distortion enhancement by polarization transfer</i> (Intensificação por transferência de polarização sem distorção)
DMAPP	Difosfato de dimetilalila
DMSO	Dimetilsulfóxido
EE	Éter etílico
EPSP	Ácido 5-enolpiruvilchiquímico-trifosfato
EM	Espectrometria de massas
EMAR	Espectrometria de massas de alta resolução
FPP	Farnesildifosfato
FURB	Universidade Regional de Blumenau
GPP	Geranildifosfato
Hex	Hexano
HMBC	<i>Heteronuclear multiple bond coherence</i> (correlação heteronuclear à

	múltiplas ligações)
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i> (cromatografia líquida de alta <i>performance</i>)
HSQC	<i>Heteronuclear single quantum coherence</i> (correlação heteronuclear a uma ligação)
IPP	Isopentenildifosfato
IR	Índice de retenção
L-Phe	L-fenilalanina
L-Tyr	L-tirosina
<i>m/z</i>	Relação massa / carga
NADPH	Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina
NOE	Efeito nuclear <i>overhauser</i>
OBS	Ácido <i>O</i> -succinilbenzóico
OPP	Difosfato de oxigênio
PDVF	Fluoreto de Polivinilideno
PENT	Pentano
PEP	Fosfoenolpiruvato
PLP	5'-fosfato pirodoxal
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SAM	S-adenosina metionina
SC	Material botânico proveniente da única coleta dos tubérculos de <i>S. canescens</i>
SCA	Fração em hexano dos tubérculos de <i>S. canescens</i>
SCB	Fração em diclorometano dos tubérculos de <i>S. canescens</i>
SCC	Fração em acetato de etila dos tubérculos de <i>S. canescens</i>
SCD	Fração em butanol dos tubérculos de <i>S. canescens</i>
SCE	Precipitado da fração em butanol dos tubérculos de <i>S. canescens</i>
SEPHCHC	Ácido 2-succinil-5-enolpiruvil-6-hidroxi-3-ciclohexen-1-carboxílico
SHCHC	Ácido 2-succinil-6-hidroxi-2,4-cicloexadien-1-carboxílico
SLA	Material botânico proveniente da primeira coleta dos tubérculos de <i>S. leucotricha</i>
SLA1	Extrato em éter de petróleo dos tubérculos da primeira coleta de <i>S. leucotricha</i>

SLA2	Extrato em acetato de etila dos tubérculos da primeira coleta de <i>S. leucotricha</i>
SLA3	Extrato em etanol dos tubérculos da primeira coleta de <i>S. leucotricha</i>
SLB	Material botânico proveniente da segunda coleta dos tubérculos de <i>S. leucotricha</i>
SLB1	Extrato em éter de petróleo dos tubérculos da segunda coleta de <i>S. leucotricha</i>
SLB2	Extrato em diclorometano dos tubérculos da segunda coleta de <i>S. leucotricha</i>
SLB3	Extrato em acetona dos tubérculos da segunda coleta de <i>S. leucotricha</i>
SLB4	Extrato em etanol dos tubérculos da segunda coleta de <i>S. leucotricha</i>
SLC	Material botânico proveniente da terceira coleta dos tubérculos de <i>S. leucotricha</i>
SLC1	Extrato em hexano dos tubérculos da terceira coleta de <i>S. leucotricha</i>
SLC2	Extrato em diclorometano dos tubérculos da terceira coleta de <i>S. leucotricha</i>
SLC3	Extrato em acetato de etila dos tubérculos da terceira coleta de <i>S. leucotricha</i>
SLC4	Extrato em etanol dos tubérculos da terceira coleta de <i>S. leucotricha</i>
SLET	Extrato etanólico total dos tubérculos da segunda coleta de <i>S. leucotricha</i> usado nos testes de atividade citotóxica
SLET1	Fração em hexano dos tubérculos da segunda coleta de <i>S. leucotricha</i> usada nos testes de atividade citotóxica
SLET2	Fração em acetato de etila dos tubérculos da segunda coleta de <i>S. leucotricha</i> usada nos testes de atividade citotóxica
SLET3	Fração em butanol dos tubérculos da segunda coleta de <i>S. leucotricha</i> usada nos testes de atividade citotóxica
SLFetOH	Extrato em etanol das folhas de <i>S. leucotricha</i>
SLFDCM	Extrato em diclorometano das folhas de <i>S. leucotricha</i>
SLFHEX	Extrato em hexano das folhas de <i>S. leucotricha</i>
TAL	Tirosina-amônia liase
TGI	<i>Total Growth Inhibition</i> (Concentração necessária para inibir

	totalmente o crescimento celular)
TMS	Tetrametilsilano
TOL	Tolueno
TPP	Coenzima difosfato tiamina
t_R	Tempo de retenção
UEL	Universidade Estadual de Londrina
UFPR	Universidade Federal do Paraná
Unicamp	Universidade Estadual de Campinas
UV	Ultravioleta
UV-vis	Ultravioleta-visível

LISTA DE SÍMBOLOS

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$	Rotação específica à 25°C
®	Marca registrada
ε	Absortividade molar
Θ	Ângulo de desvio da luz
λ_{max}	Comprimento de onda máximo
T	Tesla

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	37
1.1 A FAMÍLIA GESNERIACEAE	39
1.2. O GÊNERO <i>Sinningia</i>	47
2. OBJETIVOS	56
2.1. OBJETIVO GERAL	56
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	56
3. MATERIAIS E MÉTODOS	57
3.1. PROCEDIMENTOS GERAIS	57
3.2. MATERIAL VEGETAL	60
3.3. PREPARAÇÃO DE EXTRATOS E FRAÇÕES	60
3.4. ISOLAMENTO DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	63
3.4.1. <i>Sinningia leucotricha</i> A (SLA)	63
3.4.2. <i>Sinningia leucotricha</i> B (SLB)	68
3.4.3. <i>Sinningia leucotricha</i> C (SLC)	71
3.4.4. <i>Sinningia canescens</i> (SC)	77
3.5. ANÁLISE COMPARATIVA DOS EXTRATOS	85
3.6. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA	86
3.7. DADOS FÍSICOS E ESPECTROMÉTRICOS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS	87
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	94
4.1. NAFTOQUINONAS - IDENTIFICAÇÃO DE S1 E DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE S2, S3, S4, S5, S6	95
4.2. HIDRONAFTOQUINONA - S9	124
4.3. ANTRAQUINONA - IDENTIFICAÇÃO DE S10	129
4.3. BENZOFURANOS - DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE S11 E S12	132
4.4. SESQUITERPENOS - IDENTIFICAÇÃO DE S13 E S19 E DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE S14, S15, S16, S17, S18 E S20	139
4.4.1. Análise por CG-EM dos sesquiterpenos	169
4.5. TRITERPENOS - IDENTIFICAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS S21, S22 E S23	174
4.6. ETILCICLOEXANÓIDES - IDENTIFICAÇÃO DE S24, S25, S26 E S27	183
4.7. FENÓLICOS SIMPLES (PARABENOS) - IDENTIFICAÇÃO DE S28 E S29	201
4.8. GLICOSÍDEOS - IDENTIFICAÇÃO DE S30, S31, S32, S33, S34 E S35	209

4.9. DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DAS MISTURAS DE COMPONENTES VOLÁTEIS DE <i>S. canescens</i>	233
4.9.1. SCA - Extrato em hexano dos tubérculos de <i>S. canescens</i>	233
4.9.2. SCA-I - Primeira fração do extrato em hexano dos tubérculos de <i>S. canescens</i>	235
4.10. COMPARAÇÃO DOS EXTRATOS POR CLAE-DAD	242
4.11. ENSAIOS DE ATIVIDADE CITOTÓXICA	258
5. PROPOSTAS DE BIOGÊNESE PARA OS COMPOSTOS INÉDITOS ISOLADOS	262
5.1. NAFTOQUINONAS	262
5.2. BENZOFURANOS	268
5.3. SESQUITERPENOS	270
6 CONCLUSÃO	275
REFERÊNCIAS	277

1 INTRODUÇÃO

As plantas evoluíram anteriormente aos seres humanos (KNOLL, 2015), portanto estão presentes em nosso cotidiano desde os primórdios, primeiramente servindo como alimento, abrigo e fonte de materiais para a confecção de utensílios e vestuário. Aos poucos foi se descobrindo outra utilidade do reino vegetal, seu uso na saúde, como medicamento e/ou como auxiliar na prevenção de doenças (NEWMAN *et al.*, 2000). Inicialmente havia a simples ingestão dos diferentes tecidos das plantas, tanto *in natura* como na forma de infusões ou soluções alcoólicas, sendo esse conhecimento transmitido entre as gerações (BALUNAS; KINGHORN, 2005). A partir do século XIX as plantas deixaram de ser usadas com frequência, sendo substituídas gradualmente pelos seus constituintes puros que dão origem a medicamentos específicos para determinadas enfermidades (RISHTON, 2008; GANESAN, 2008). O contínuo desenvolvimento da indústria de medicamentos estimulou o estudo químico das plantas como fonte de fármacos.

Nos últimos anos, além das plantas, a busca por novos fármacos tem se direcionado também aos fungos (WIEMANN; KELLER, 2014; ALY *et al.*, 2010), bactérias (ELSHAHAWI *et al.*, 2015; HOU *et al.*, 2012; GENILLOUD *et al.*, 2011), e organismos marinhos (BLUNT *et al.*, 2010; HILL, 2011; BRUSOTTI *et al.*, 2014). Em todos os casos, buscam-se os metabólitos secundários, que são as substâncias específicas de cada reino, família ou gênero, que têm um papel não essencial na manutenção da vida dos diferentes seres (VAISHNAV; DEMAINE, 2011). Podem ser produzidos em resposta a estímulos externos, como por exemplo, as variações ambientais relacionadas às estações do ano (sazonalidade), níveis de umidade, nutrientes, etc (STROHL, 2000). Os metabólitos secundários não são apenas utilizados como fármacos pelos homens, mas também como cosméticos (MARTINS *et al.*, 2014; GECHEV *et al.*, 2014), preservantes (HUGO; HUGO, 2015; GYAWALI; IBRAHIM, 2014; STOJKOVIĆ *et al.*, 2014), agroquímicos (DAYAN *et al.*, 2009; PENG *et al.*, 2003; GERWICK; SPARKS, 2014), nutracêuticos, etc (WEIDNER *et al.*, 2012; DAS *et al.*, 2012; NOBILI *et al.*, 2009; MCCHESENEY *et al.*, 2007).

Com o avanço da tecnologia, houve um declínio na utilização de produtos naturais como medicamentos, devido a obtenção de análogos sintéticos com alto

rendimento, e algumas vezes, uma maior eficiência (MCCHESENEY *et al.*, 2007; LI; VEDERAS, 2009). Ainda assim, os produtos naturais ou seus derivados, são uma relevante fonte de medicamentos usados na terapia atual (ZHOU *et al.*, 2010) e de inspiração para síntese de moléculas bioativas.

De acordo com Newman e Cragg (2012), entre os medicamentos aprovados e usados no período de 1981 a 2010, 39,8 % são de fontes naturais, incluindo os derivados e fitofármacos. Considerando as substâncias puras, apenas 4% são de origem natural, enquanto que os medicamentos sintéticos representam 40 % (NEWMAN; CRAGG, 2012). Isso indica que a síntese está sendo muito utilizada na preparação de novos fármacos, mas que também, por outro lado, os produtos naturais são ótimas bases no desenvolvimento de novos medicamentos (GULLO; HUGHES, 2005). Esses medicamentos são empregados nas mais variadas enfermidades, como antibióticos, antifúngicos, analgésicos, antivirais, anti-Alzheimer, etc (NEWMAN; CRAGG, 2012).

Fármacos antitumorais estão entre aqueles mais buscados nos dias atuais (HARVEY, 2008), devido à alta incidência no número de casos de câncer. Estima-se que mais de 12 milhões de novos casos, com mais de 8,2 milhões de mortes ocorreram no ano de 2012 no mundo todo (STEWART; WILD, 2014). A maioria das drogas encontradas e utilizadas causa a redução no crescimento do tumor, mas não sua completa inatividade ou destruição (LI *et al.*, 2011). Outros problemas são a resistência adquirida pelo tumor com o tempo de uso do medicamento (ZHAO *et al.*, 2013) e o reaparecimento da doença após um longo período de remissão (LUKIANOVA-HLEB *et al.*, 2012). Por isso torna-se necessária a busca incessante por novas drogas que sejam cada vez mais eficientes e seletivas no tratamento e, consequente cura do câncer. Uma forma de se encontrar novas moléculas com finalidades terapêuticas é o estudo fitoquímico de espécies ainda não conhecidas química e farmacologicamente, uma vez que é estimado que apenas de 10 a 15% da biodiversidade do planeta foi explorada até o momento para tal finalidade (ALVIN *et al.*, 2014). Além desse aspecto, esses estudos contribuem para a compreensão das relações filogenéticas entre os táxons (quimiosistemática) e para documentar a composição química de espécies que podem vir a ser extintas no futuro próximo.

1.1 A FAMÍLIA GESNERIACEAE

A família Gesneriaceae pertence à ordem das Lamiales, que inclui outras 24 famílias, entre elas Bignoniaceae, Calceolariaceae, Lamiaceae, Oleaceae, Scrophulariaceae e Verbenaceae (REFULIO-RODRIGUEZ; OLMSTEAD, 2014). Gesneriaceae, que foi primeiramente reconhecida por Jussieu em 1806 e formalmente estabelecida por De Candolle em 1816, compreende aproximadamente 3500 espécies, classificadas em 150 gêneros (WEBER, 2004b; WEBER, 2004a). Essas espécies estão distribuídas nas regiões tropicais de todos os continentes do planeta, com exceção da Antártida (BOGGAN; SHALIT, 2006).

A família é comumente dividida em duas subfamílias, Gesnerioideae e Cyrtandroideae. Essa divisão leva em consideração o crescimento igual (Gesnerioideae) ou desigual (Cyrtandroideae) dos cotilédones e também o desenvolvimento do endosperma, que não ocorre em Cyrtandroideae. Essas duas subfamílias estão localizadas em diferentes regiões do planeta, sendo que as espécies da subfamília Gesnerioideae ocorrem nas Américas, enquanto que as espécies da subfamília Cyrtandroideae estão localizadas na África, Ásia, Europa e Oceania. Uma exceção é a tribo Coronanthereae que se distribui na Austrália e América do Sul, mas pertence à subfamília Cyrtandroideae (ARAUJO *et al.*, 2005; PERRET *et al.*, 2013). Os dez maiores gêneros da família são *Cyrtandra* (600 spp), *Columnea* (200 spp), *Aeschynanthus* (180 spp), *Chirita* (180 spp), *Henckelia* (155 spp), *Streptocarpus* (155 spp), *Besleria* (150 spp), *Didymocarpus* (100 spp), *Agalmyla* (95 spp) e *Paraboe* (90 spp). Destes, apenas *Besleria* e *Columnea* são encontrados no Brasil (SKOG, 2006) (Figura 01; página 40).

Na América, os principais centros de diversidade da família são o noroeste da América do Sul (Equador e Colômbia) e a América Central, sendo o sudeste brasileiro um centro secundário (PERRET *et al.*, 2013) (Figura 02; página 40).

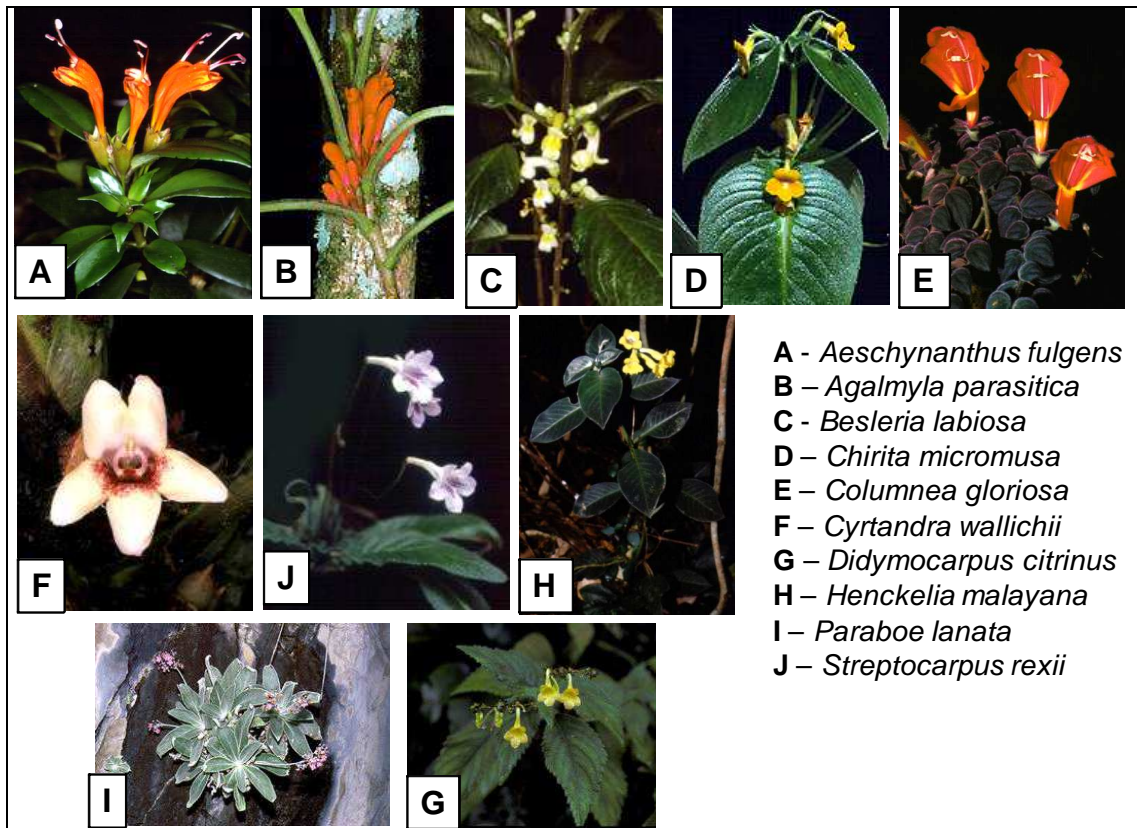


FIGURA 01. Exemplos de espécies pertencentes aos dez maiores gêneros da família Gesneriaceae.
 FONTE: (WEBER; SKOG, 2007)

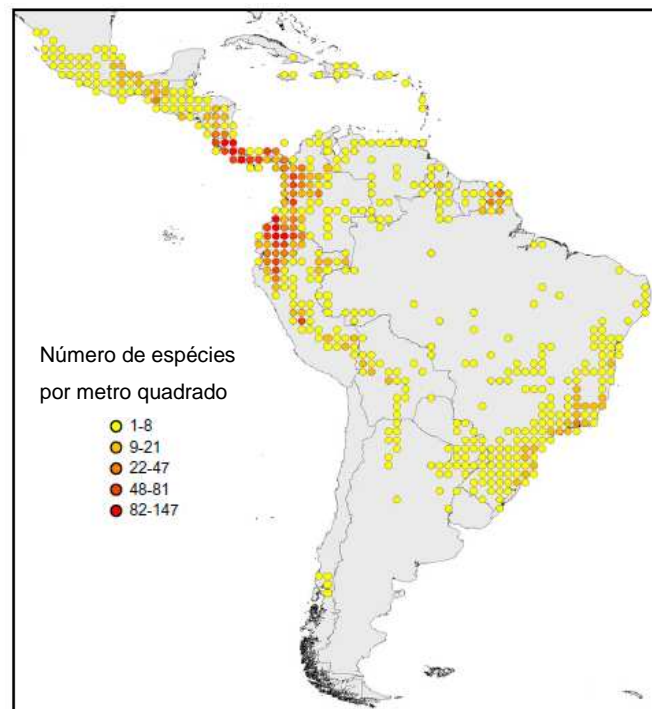


FIGURA 02. Densidade populacional de espécies de Gesneriaceae nas Américas Central e do Sul.
 FONTE: Adaptado pelo autor de (PERRET *et al.*, 2013).

Espécies da família Gesneriaceae podem ser ervas, arbustos ou subarbustos, com rizomas ou tubérculos, sendo esse último caracter encontrado no gênero *Sinningia* (WEBER, 2004b). Suas folhas são normalmente opostas e com pelos, e a inflorescência é axilar ou terminal, com flores coloridas em forma de tubo. Os frutos são em capsula ou baga e as sementes são pequenas e numerosas (BOGGAN; SHALIT, 2006; KRAHL *et al.*, 2014; AFFONSO *et al.*, 2014). Podem crescer no solo (terrestres), sobre outras plantas (epífitas) ou sobre pedras (rupícolas) (CHAUTEMS *et al.*, 2010). Muitas espécies são cultivadas como ornamentais em todo o mundo, sendo o exemplo mais conhecido a violeta africana (*Saintpaulia ionantha*) (Figura 03; página 41).



FIGURA 03. Exemplos da espécie mais cultivada de Gesneriaceae, *Saintpaulia ionantha*.
FONTE: O autor.

Espécies de Gesneriaceae são usadas contra febre, problemas respiratórios, feridas, dor, inflamação, doenças infecciosas, malária, como tônicos e até para tratar mordida de cobra (VERDAN; STEFANELLO, 2012). Recentemente foi descrito que o material seco de *Chirita sinensis* está sendo usado na preparação de um medicamento chinês para tratar pancreatite crônica (YANG, 2014).

Estudos de atividade biológica são escassos com espécies da família Gesneriaceae, tendo sido encontrados relatos de extratos ou substâncias puras com atividades antibacteriana, antifúngica, antiviral, antioxidante, entre outras (VERDAN;

STEFANELLO, 2012). Recentemente, de *Haberlea rhodopensis* foram isoladas substâncias que possuem atividade citoprotetora, potencial de eliminação de radicais e inibem a peroxidação lipídica (KONDEVA-BURDINA *et al.*, 2013). Os compostos isolados de *Aeschynanthus maculatus* apresentaram ótima atividade inibitória na α -glucosidade (TIAN; KANG, 2012) e o extrato bruto das folhas de *Henckelia humboldtiana* se mostrou muito ativo contra diversas bactérias (KINDO *et al.*, 2014).

Da mesma forma que ocorre com os estudos de atividade biológica, não são muito numerosos os trabalhos envolvendo isolamento e caracterização de metabólitos secundários de espécies de Gesneriaceae. A investigação química foi realizada principalmente com espécies da subfamília Cyrtrandoideae, sendo que em Gesnerioideae os estudos estão restritos ao gênero *Sinningia*. Uma revisão realizada em 2012 mostrou que Gesneriaceae apresenta uma grande diversidade química, acumulando principalmente flavonóides, terpenóides, quinonas e glicosídeos fenólicos. Em algumas espécies foram encontradas xantonas, lignanas e substâncias aromáticas com novos esqueletos carbônicos. Até aquele momento tinham sido identificadas apenas 300 substâncias (VERDAN; STEFANELLO, 2012). Desde então, novas investigações foram realizadas, ampliando o número de substâncias isoladas de Gesneriaceae, mas mantendo o perfil químico delineado anteriormente (Tabela 01; páginas 43 e 44, Figuras 04-06; páginas 44-46).

TABELA 01. ESTUDOS QUÍMICOS RECENTES COM GESNERIACEAE (2012-2015), COM EXCEÇÃO DO GÊNERO *Sinningia*.

Espécie	Metabólitos secundários	Referência
<i>Aeschynanthus maculatus</i> (Tecido não informado)	Esteróides: lupeol, estigmasterol, β -daucosterol (1) Triterpenos: ácido ursólico, ácido oleanólico, ácido 3-hidroxi-12-taraxasten-28-óico (2)	(TIAN; KANG, 2012)
<i>Chirita longgangensis</i> var. <i>hongyao</i> (Raízes e Caule)	Fenólicos: hirsutanonol (3), 5-O- β -D-hirsutanonolídeo (4), platyphyllosídeo (5), plantainosídeo A, plantainosídeo B, calceolariosídeo C, calceolariosídeo D Quinonas: chiritalona A (6), chiritalona B (7), 8-hidroxi- α -dunniona (8), digiferruginol (9), 2,5-dimetoxi-1,4-benzoquinona (10) Neoliganana: 7'-E-4,9-dihidroxi-3,3',5'-trimetoxi-8,4'-oxineolign-7'-en-9'-al (11) Triterpeno: ácido escutelárico	(HUANG; HE, 2014); (SU <i>et al.</i> , 2012)
<i>Corallodiscus flabellata</i> (Tecido não informado)	Flavonóides: pectolinarina (12), 4'''acetato de pectolinarina (13), linarina (14) Fenólicos: 3,4-dihidroxifeniletanol-8-O- β -D-apiofuranosil(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopiranosídeo (15), 3,4-dihidroxifeniletanol-8-O- β -D-apiofuranosil(1 \rightarrow 3)-[β -D-glucopiranosil(1 \rightarrow 6)]-4-O-trans-cafeoil- β -D-glucopiranosídeo (16), hidroxitirosol, tirosol	(YAO <i>et al.</i> , 2012)
<i>Haberlea rhodopensis</i> (Folhas)	Flavonóides: hispidulina-8-C-(2-O-siringol- β -glucosídeo), hispidulina-8-C-(6-O-acetil-2-O-siringol- β -glucosídeo), e hispidulina-8-C-(6-O-acetil- β -glucosídeo), miricetina (17), hesperidina (18), quercetina (19), luteolina, kaempferol, hyperosídeo (20), rutina (21) Fenólicos: ácido 2-hidroxibenzóico (22), ácido clorogênico (23), ácido vanílico, ácido cafeico, ácido siríngico, ácido <i>p</i> -cumárico (24), ácido sinápico (25), ácido ferúlico, ácido cinâmico, miconosídeo	(KONDEVA-BURDINA <i>et al.</i> , 2013); (MIHAYLOVA <i>et al.</i> , 2013)
<i>Lysionotus pauciflorus</i> (Todas as partes)	Sesquiterpeno: 3,10-dihidroxiacoroneno (26) Fenólico: 3,5-dimetoxi-4-hidroxi- <i>trans</i> -estilbeno (27)	(QING-FA <i>et al.</i> , 2013)
		continua

TABELA 01. ESTUDOS QUÍMICOS RECENTES COM GESNERIACEAE (2012-2015), COM EXCEÇÃO DO GÊNERO *Sinningia*.

		conclusão
Espécie	Metabólitos secundários	Referência
<i>Paraboea glutinosa</i> (Raízes e caules)	Triterpenos: 3- <i>epi</i> -pomólico, ácido escutelárico, ácido 3 α ,19 α ,24-trihidroxiolean-12-en-28-óico (28), ácido ursólico, 2 α ,3 α ,19 α ,24-tetrahidroxiolean-12-en-28-óico (29), 2 α ,3 α ,19 α ,24-tetrahidroxiurs-12-en-28-ato de glicosila (30), ácido 2 α ,3 α ,19 α ,24-tetrahidroxiurs-12-en-28-óico (31), Fenólicos: ácido (<i>E</i>)-3,4-dimetoxicinnâmico (32), ácido cafeico, ácido etil-cafeico (33) Monoterpeno: citronelol (34)	(WANG <i>et al.</i> , 2014)
<i>Rhabdothamnus solandri</i> (Pétalas)	Antocianinas: cianidina-3- <i>O</i> -glucosídeo, pelargonidina-3- <i>O</i> -glucosídeo, cianidina-3- <i>O</i> -(6"-malonil)-glucosídeo (35), pelargonidina-3- <i>O</i> -(6"-malonil)-glucosídeo (36)	(ZHANG <i>et al.</i> , 2014)

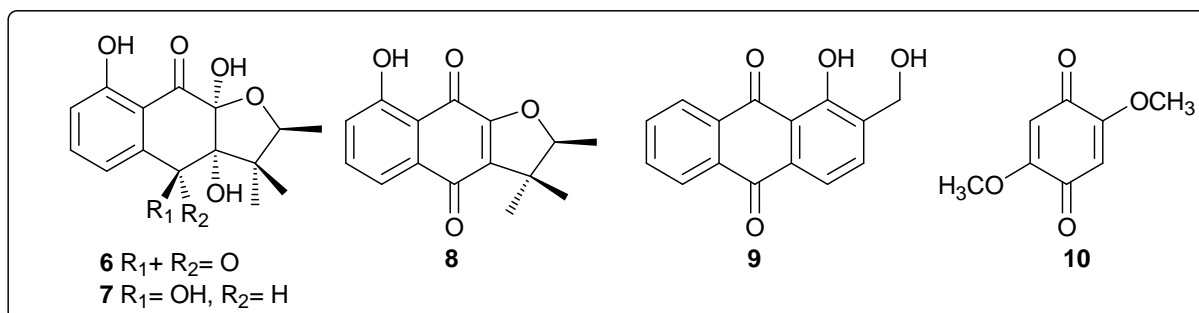


FIGURA 04. Quinonas (**4-8**) isoladas de Gesneriaceae (2012-2015).
 FONTE: O autor.

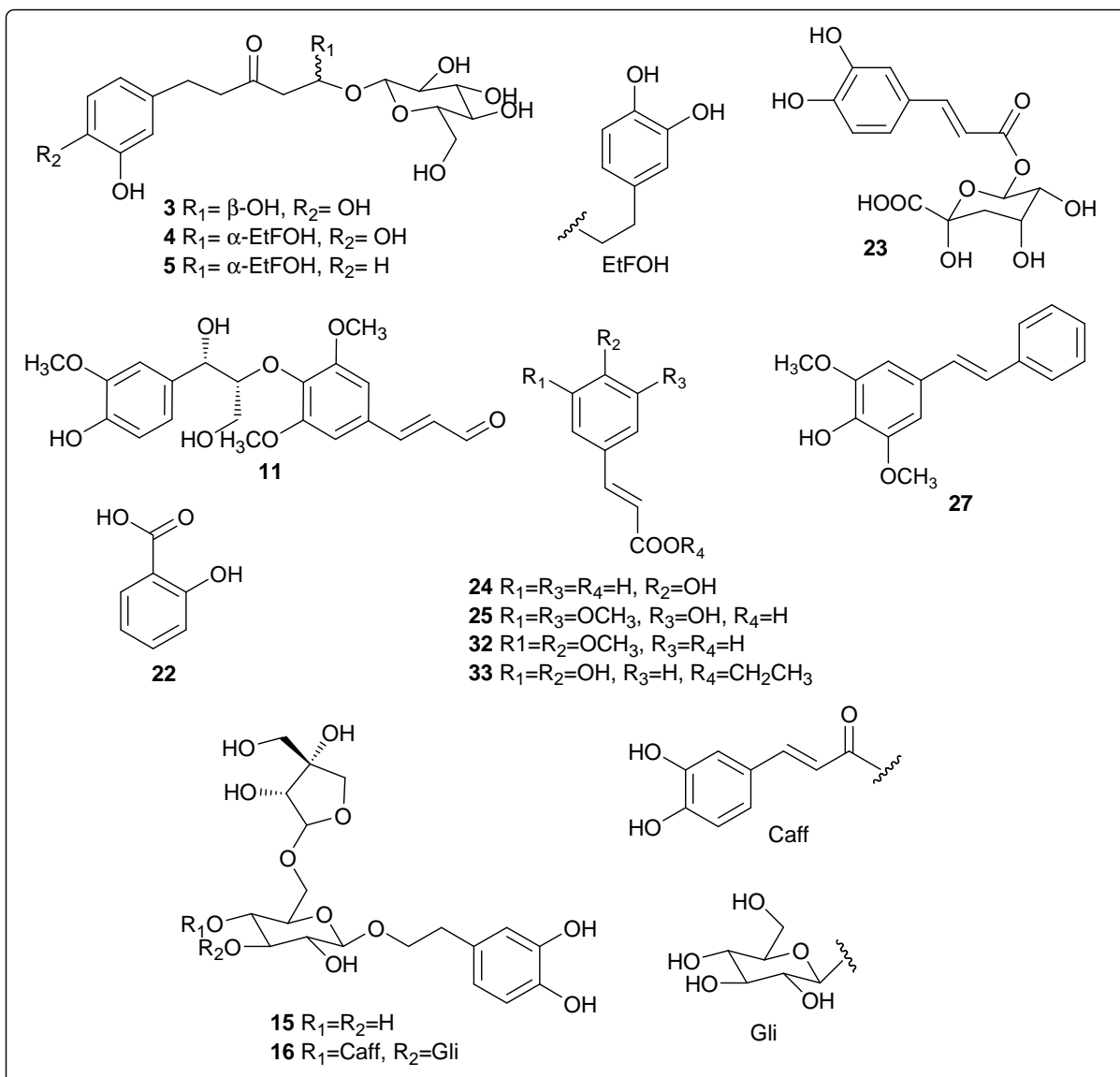


FIGURA 05. Fenólicos (1-3, 9, 19-22, 27-28, 31, 35-36) isolados de Gesneriaceae (2012-2015).
 FONTE: O autor.

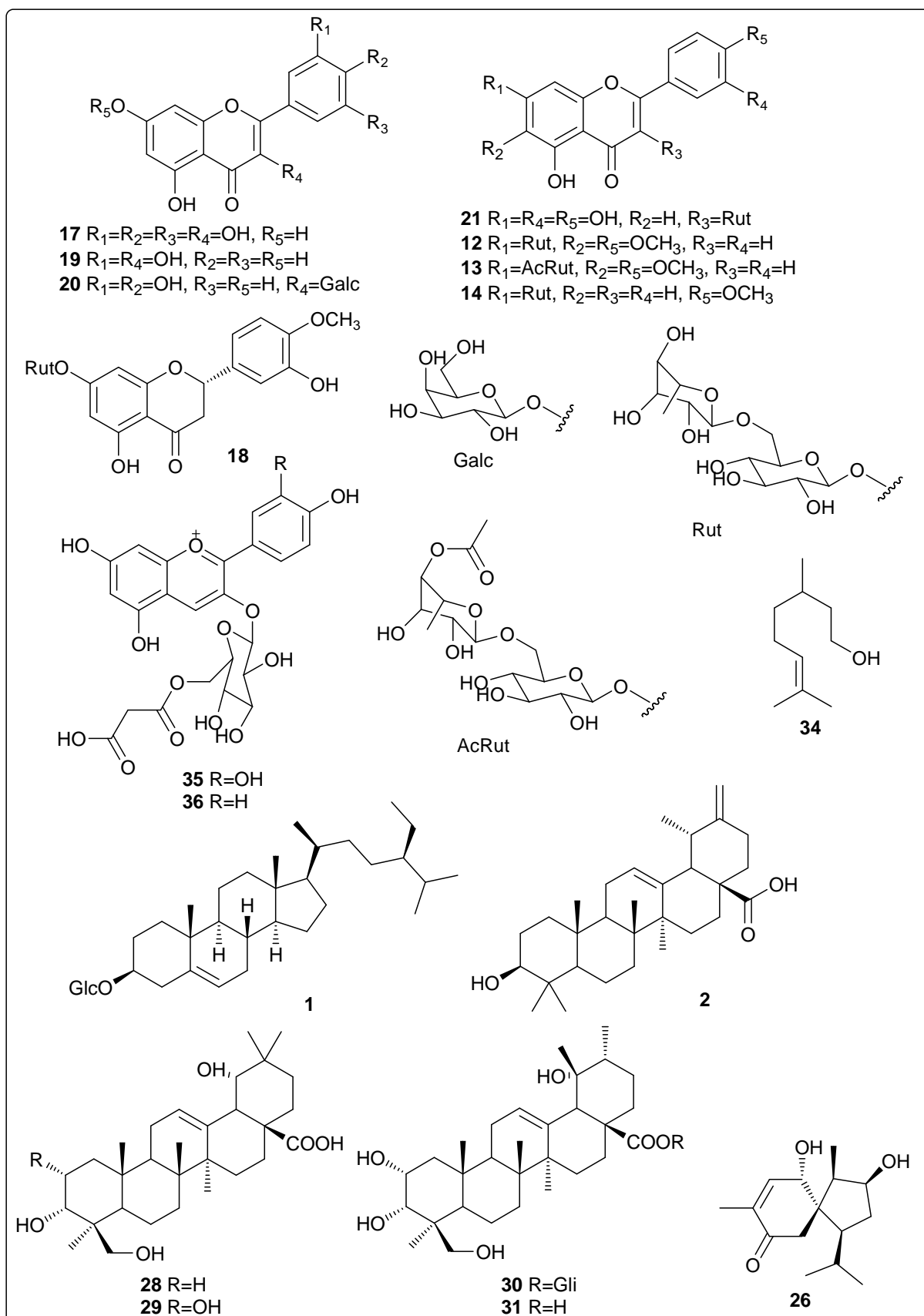


FIGURA 06. Flavonóides (**10-11**, **14-18**, **32-34**), esteróide (**12**) e terpenos (**13**, **23-26**, **29-30**) isolados de Gesneriaceae (2012-2015).
 FONTE: O autor.

No Brasil a família Gesneriaceae é representada por 27 gêneros e 211 espécies, distribuídas por todos os estados, em diversos ecossistemas, como floresta amazônica, caatinga, cerrado, mata atlântica e pampa (ARAÚJO *et al.*, 2015). Entretanto, a maior diversidade de espécies é encontrada na mata atlântica, na região sudeste (PERRET *et al.*, 2013).

1.2. O GÊNERO *Sinningia*

O principal gênero da família Gesneriaceae no Brasil é *Sinningia*, com 69 espécies (ARAÚJO *et al.*, 2015). As espécies de *Sinningia* são ervas ou subarbustos, a maioria de ciclo anual, com tubérculo perene. Crescem durante a primavera, florescem e entram em declínio durante o outono/inverno, quando perdem a suas partes aéreas. Como outras gesneriáceas, todas as espécies de *Sinningia* produzem belas flores, tendo um grande potencial ornamental. *S. speciosa*, conhecida como gloxínia, é comumente comercializada em floriculturas (Figura 07; página 47). Muitas espécies são de ocorrência rara, estando ameaçadas de extinção, tanto pelo extrativismo como pela destruição do seu “habitat” pela agricultura e pecuária (ARAUJO *et al.*, 2005; CHAUTEMS, 2003; CHAUTEMS *et al.*, 2010).



FIGURA 07. Exemplar de gloxínia (*Sinningia speciosa*).
FONTE: O autor.

O gênero *Sinningia* pertence à tribo Sinningieae, que inclui também os gêneros *Paliavana* e *Vanhouttea*. Uma análise filogenética dessa tribo sugeriu a sua divisão em cinco clados, estando as espécies de *Sinningia* distribuídas nos clados Dircaea, Corytholoma e Sinningia. As espécies *S. canescens* e *S. leucotricha* pertencem ao clado Dircaea (PERRET *et al.*, 2003).

Algumas espécies de *Sinningia* são consideradas medicinais. *S. incarnata* é utilizada pelos indígenas mexicanos como contraceptivo e contra diarreia. *S. tubiflora* é considerada purgativa na Argentina. No Brasil, *S. allagophylla*, é usada como tônico, emoliente, diurético e febrífugo (GOMES; SHEPHERD, 2000; WIEHLER, 1995). Esta última espécie apresentou atividade citotóxica, antiinflamatória e analgésica (RIVA *et al.*, 2012; BARBOSA *et al.*, 2013).

Dos poucos estudos existentes com espécies de *Sinningia*, a maioria foi realizado pelo nosso grupo de pesquisa. As substâncias isoladas do gênero e suas respectivas espécies estão relacionadas na tabela 02 (páginas 48 e 49) e figuras 08-13 (páginas 49-52). Estudos de constituintes voláteis foram realizados com as espécies *S. tubiflora*, cujas flores produzem um aroma rico em linalol (37) (PERRET *et al.*, 2003) e com *S. aggregata*, que possui uma resina aromática nas folhas, caracterizada pela presença majoritária de linoleato de metila, 1-octadecanol, acetato de (*Z*)-nerolidila (38), espatulenol (39) e (*E*)-nerolidol (40) (STEFANELLO *et al.*, 2005).

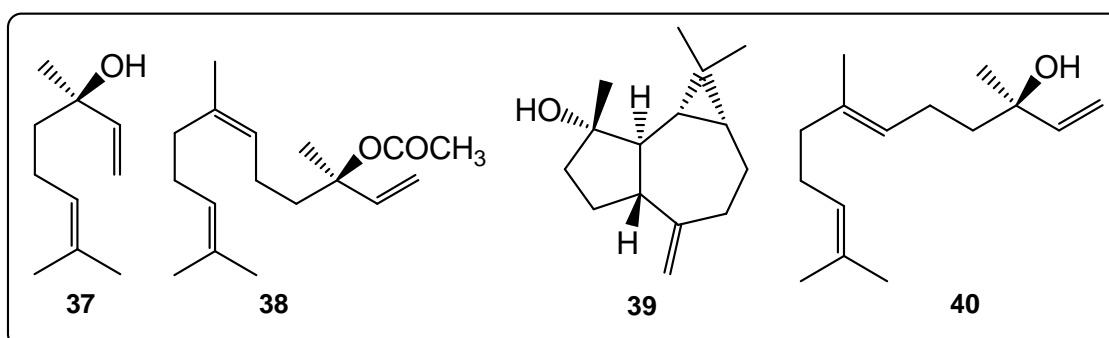
TABELA 02. SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Sinningia*.

Espécie	Metabólito secundário	Referências
<i>S. aggregata</i> (Tubérculos)	<p>ε-lactonas aromáticas: aggregatinas A-C (41-43)</p> <p>Hidronaftoquinonas: aggregatinas D-F (46, 44-45)</p> <p>Antraquinonas: tectoquinona (47), 7-metoxi-tectoquinona (48), 7-hidroxi-tectoquinona (49), 1-hidroxi-tectoquinona (50), pustulina (51), 1,6-dihidroxi-tectoquinona (52), 6-hidroxi-tectoquinona (53)</p> <p>Etilcicloexanóides: halleridona (54), cornosídeo (55)</p> <p>Fenólico: tirosol (56)</p> <p>Glicosídeo: calceolariosídeo B (57)</p>	(VERDAN <i>et al.</i> , 2010; VERDAN <i>et al.</i> , 2015)

continua

TABELA 02. SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Sinningia*.

		conclusão
Espécie	Metabólito secundário	Referências
<i>S. allagophylla</i> (Tubérculos)	Antraquinona: tectoquinona (47)	(RIVA <i>et al.</i> , 2012)
	Naftoquinona: dunniol (58)	
	Naftocromenos: lapachenol (59), 8-metoxilapachenol (60)	
	Ésteres esteroidais: oleato e linoleato de sitosterila (61-62) e oleato e linoleato de estigmasterila (63-64)	
<i>S. cardinalis</i> (Pétalas)	Flavonóides: luteolinidina-5-O-glucopiranosídeo (65), apigeninidina-5-O-glucopiranosídeo (66), luteolina-7-O-glicosídeo (67), luteolina-7-O-glucuronídeo (68), apigenina-7-O-glucuronídeo (69)	(JENSEN, 1996; SWINNY <i>et al.</i> , 2000; WINEFIELD <i>et al.</i> , 2005)
	Glicosídeo: verbascosídeo (70)	
	Fenólico: ácido cinâmico (71)	
<i>S. speciosa</i> (Tubérculos e partes aéreas)	Etilcicloexanóides: cleroindicina-B (72), isorengiol (73)	(VERDAN <i>et al.</i> , 2009)
	Antraquinonas: 7-metoxi-tectoquinona (48), 1-hidroxi-7-metoxi-tectoquinona (74)	
	Esteróides: β -sitosterol (75) e estigmasterol (76)	
<i>S. warmingii</i> (Tubérculos)	ϵ-lactona aromática: aggregatina C (43)	(VERDAN <i>et al.</i> , 2014)
	Hidronaftoquinona: aggregatina D (44)	
	Naftocromeno: lapachenol (59)	
	Antraquinonas: tectoquinona (47), 7-metoxi-tectoquinona (48), 7-hidroxi-tectoquinona (49) e 1-hidroxi-tectoquinona (50)	
	Etilcicloexanóide: halleridona (54)	
	Esteróides: β -sitosterol (75) e estigmasterol (76)	

FIGURA 08. Constituintes voláteis de *S. tubiflora* (**37**) e *S. aggregata* (**38-40**).
FONTE: O autor.

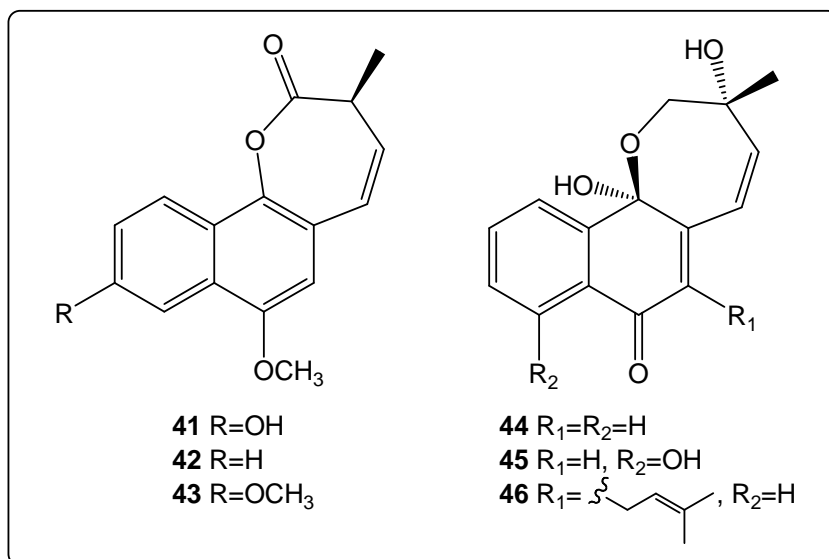


FIGURA 09. ε-lactonas aromáticas e hidronaftoquinonas isoladas de *S. aggregata* (**41-43**, **44-46**) e *S. warmingii* (**43**, **46**).

FONTE: O autor

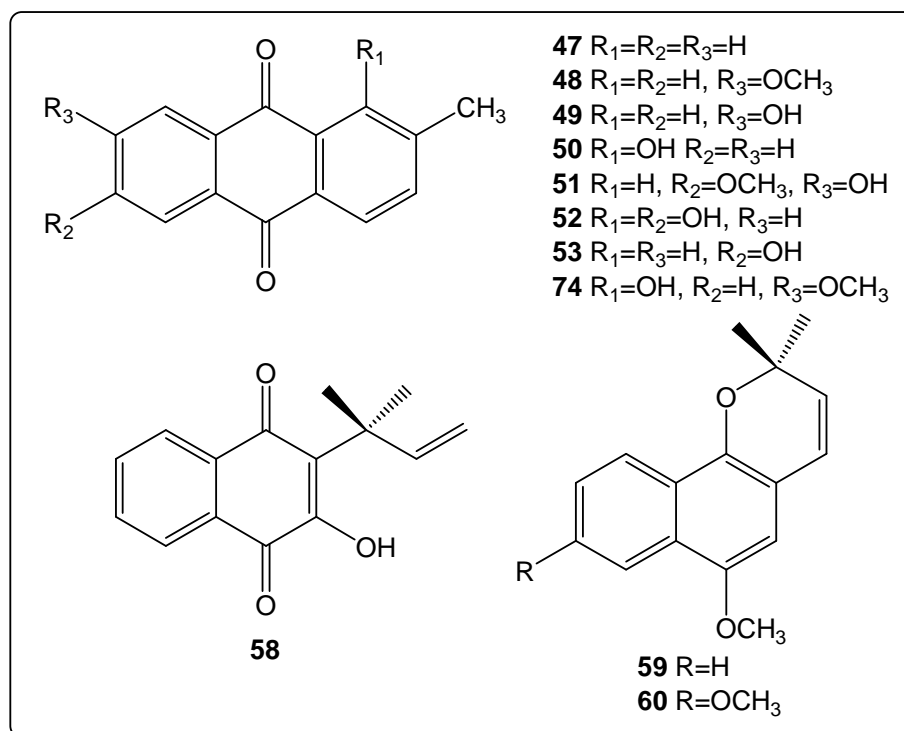


FIGURA 10. Quinonas (**47-53**, **58**, **74**) e cromenos (**59-60**) isolados de espécies de *Sinningia speciosa*, *S. aggregata* e *S. allagophylla*.

FONTE: O autor.

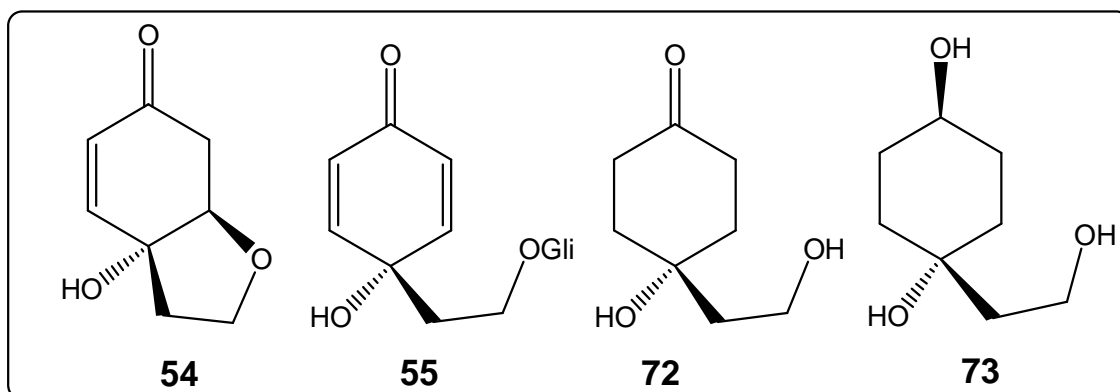


FIGURA 11. Etilcicloexanóides (**54-55** E **72-73**) isolados de espécies de *Sinningia speciosa* e *S. aggregata*.

FONTE: O autor.

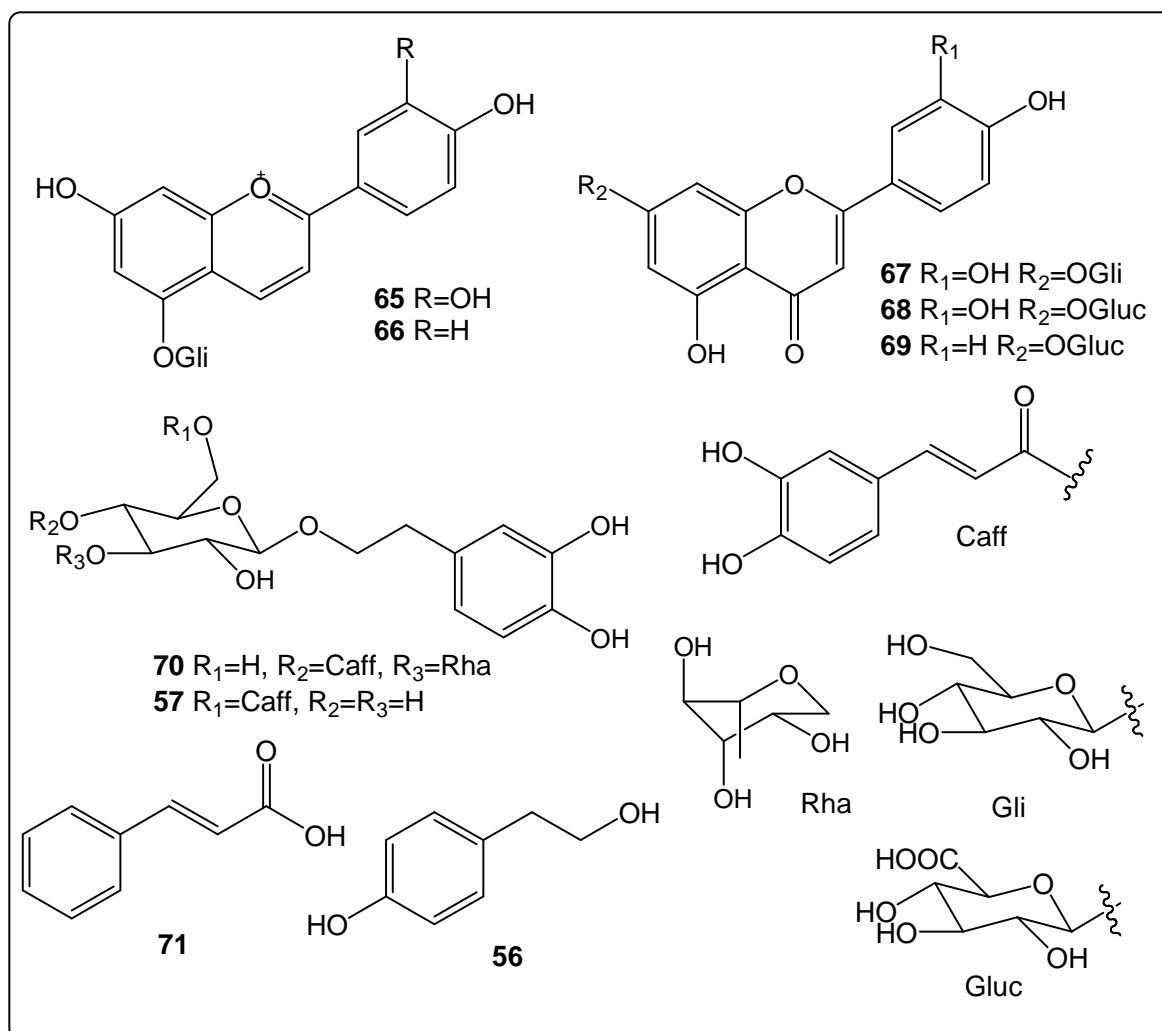


FIGURA 12. Flavonóides de *S. cardinalis* (**65-69**) e fenólicos (**56-57** e **70-71**) isolados de espécies de *Sinningia cardinalis* e *Sinningia aggregata*.

FONTE: O autor.

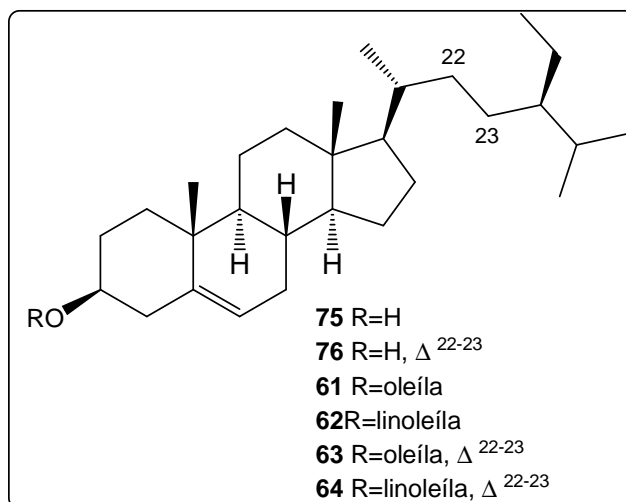


FIGURA 13. Esteróides de *S. speciosa* (**75-76**), *S. allagophylla* (**61-64**) e *S. warmingii* (**75-76**).
 FONTE: O autor.

Estes resultados mostram que as espécies de *Sinningia* produzem metabólitos secundários de várias classes, desde esteróides esterificados até compostos com novos esqueletos químicos, como as aggregatinas. Espécies deste gênero podem ser promissoras para o isolamento de novos compostos que podem mostrar atividade biológica, nos motivando a dar continuidade ao seu estudo fitoquímico.

Na região sul do país são encontradas muitas espécies de *Sinningia*, entre as quais *S. leucotricha* e *S. canescens* (ARAÚJO *et al.*, 2015) (Figura 14; página 53). As duas espécies são morfologicamente semelhantes e recebem o nome popular de rainha-do-abismo, em alusão a sua ocorrência em afloramentos rochosos (UNEMOTO *et al.*, 2006; CHAUTEMS, 2003).

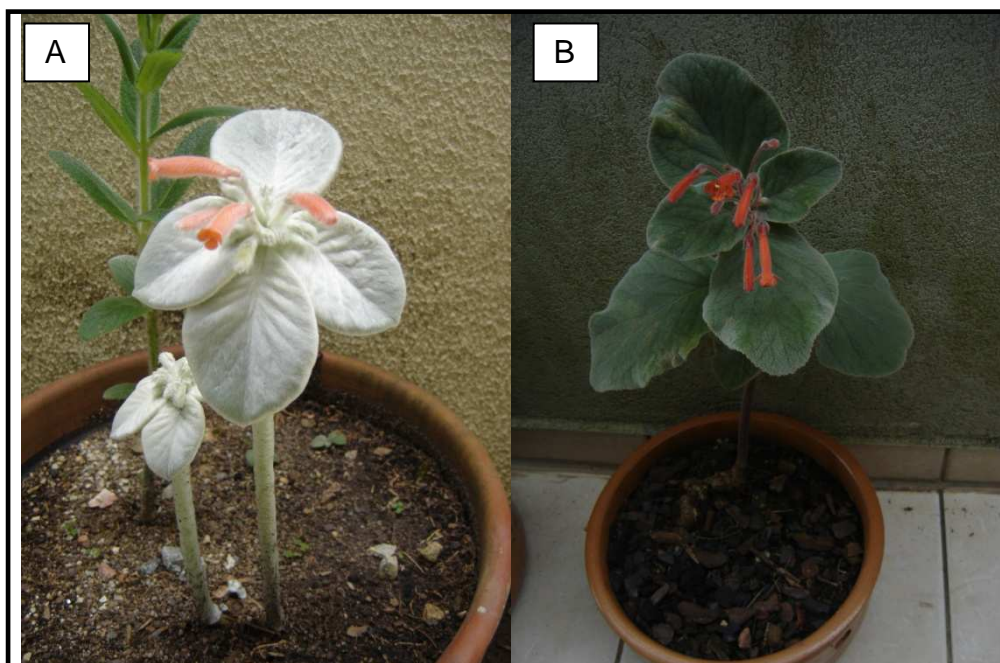


FIGURA 14. Exemplos de *S. leucotricha* (A) e *S. canescens* (B).
 FONTE: O autor.

Sinningia leucotricha (Hoehne) Moore (Figura 14A; página 53), é endêmica do estado do Paraná, onde ocorre em afloramentos rochosos e altitudes de aproximadamente 700 metros. É uma planta herbácea com folhas cobertas por muitos pelos brancos, que dão uma coloração prateada, e flores vermelhas, tornando-a uma planta de rara beleza. A sua coleta para a comercialização como planta ornamental, causou uma diminuição das populações naturais (UNEMOTO *et al.*, 2006).

Sinningia canescens (Mart.) Wiehler (Figura 14B; página 53) ocorre nos estados do Paraná e São Paulo também em afloramentos rochosos como aqueles encontrados no parque Estadual de Vila Velha. A principal diferença morfológica em relação à *S. leucotricha* é que esta possui o caule avermelhado e as folhas contêm menos pelos, o que diminui a aparência prateada (CHAUTEMS, 2003).

Como pode ser observado na figura 15 (página 55), as duas espécies são muito semelhantes, mas desde o tubérculo, já é possível visualizar diferenças entre elas. O tubérculo de *S. canescens* (B) é avermelhado e com muito mais tricomas do que o tubérculo de *S. leucotricha* (A). O broto da *S. leucotricha* (C) é diferenciado, pois a quantidade de pelos brancos nas folhas e caule é muito grande, deixando a planta alva, já para *S. canescens* (D), há pelos, mas em bem menor quantidade e pode-se observar também que essa possui uma coloração avermelhada. Na fase de

floração (E e F), ficam mais evidentes as diferenças entre as espécies, principalmente pelo colorido. *S. leucotricha* (E) começa a formar os botões com apenas 4 folhas brancas e *S. canescens* (F) com mais do que quatro folhas e essas sendo verdes com bordas avermelhadas. As flores de *S. leucotricha* (G) e *S. canescens* (H) são bem semelhantes, ambas vermelhas e em forma de tubo, saindo do mesmo ponto, no centro das folhas. Observando a imagem dos exemplares inteiros (Figura 14; página 53), pode-se observar que há duas diferenças bem marcantes, *S. leucotricha* possui apenas quatro folhas com muitos pelos brancos, enquanto que *S. canescens* possui mais folhas, com menos pelos brancos cada.

Nos estudos filogenéticos realizados com a tribo Sinningieae (PERRET *et al.*, 2003), *S. leucotricha* e *S. canescens* foram colocadas no clado *Dircaea* estando relativamente próximas uma da outra. O conhecimento sobre a química do gênero pode corroborar essa proposta filogenética, uma vez que a produção de metabólitos secundários depende do aparato biossintético de cada espécie. Portanto, o estudo fitoquímico dos tubérculos de *S. leucotricha* e *S. canescens* foi desenvolvido buscando contribuir para a quimiosistemática do gênero e para a descoberta de substâncias com potencial farmacológico.

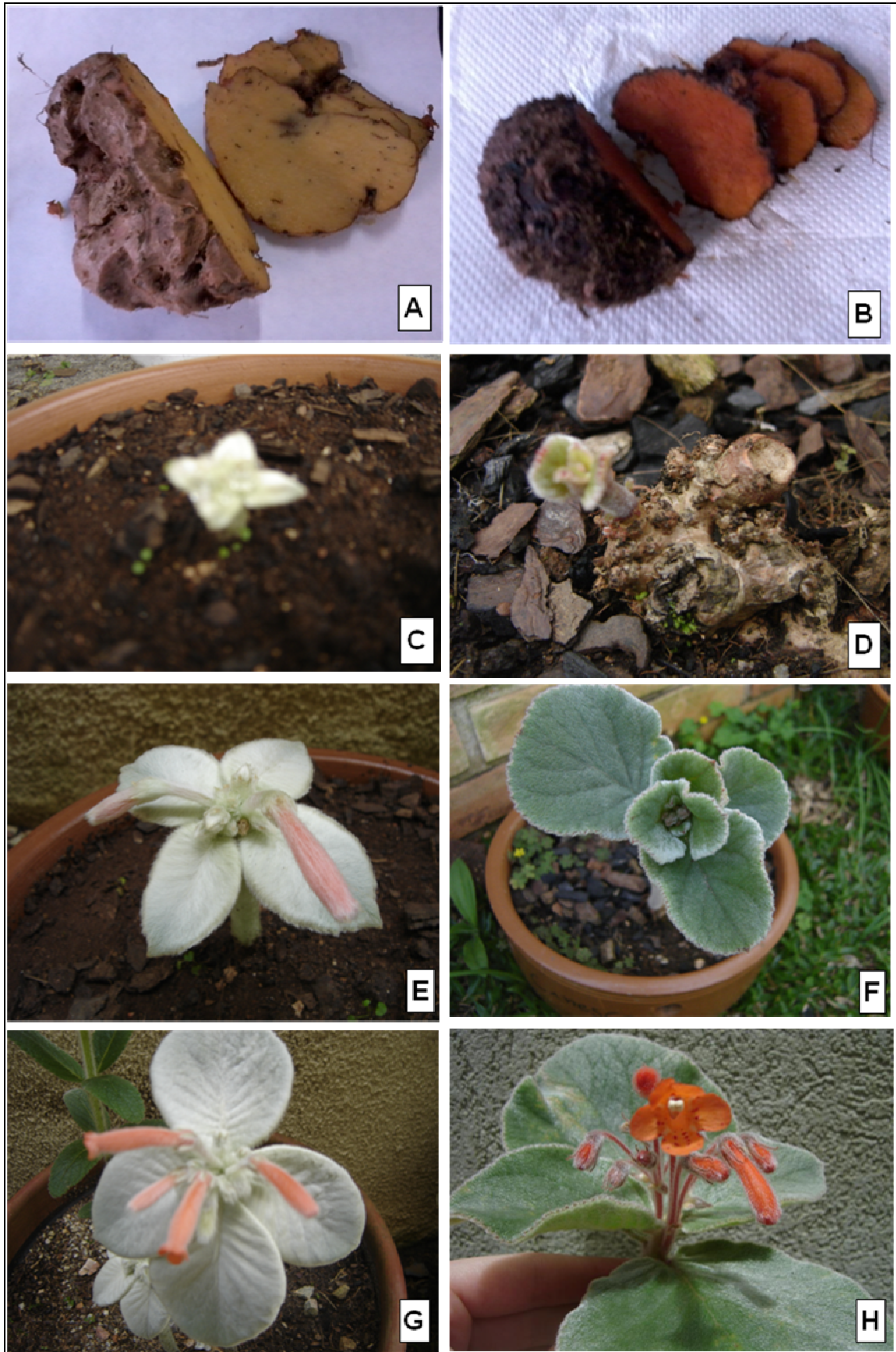


FIGURA 15. Estágios de crescimento de *S. leucotricha* (esquerda) e *S. canescens* (direita) (A e B - tubérculo; C e D- broto; E e F - botão; G e H- flor).

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Realizar o estudo fitoquímico e biológico de espécies de *Sinningia*, a fim de contribuir para a quimiosistemática da família e para a descoberta de novas substâncias com potencial citotóxico.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Isolar, purificar e identificar os metabólitos secundários dos tubérculos de *Sinningia canescens* e *S. leucotricha*;
- Comparar através de RMN de ^1H e CLAE-DAD:
 - a composição química dos extratos das folhas e tubérculos de *S. leucotricha*;
 - a composição química dos extratos dos tubérculos de *S. leucotricha* e *S. canescens*.
- Realizar ensaios de atividade citotóxica frente linhagens de células tumorais (U251 (glioma, SNC), UACC-62 (melanoma), MCF-7 (mama), NCI-ADR/RES (ovário resistente a múltiplos fármacos), 786-0 (rim), NCI-H460 (pulmão, tipo não pequenas células), PC-3 (próstata), HT-29 (cólon), OVCAR-3 (ovário), K562 (leucemia), VERO (rim, célula normal) e HaCat (célula normal)) com os extratos, frações e substâncias isoladas.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. PROCEDIMENTOS GERAIS

Nas separações por cromatografia em coluna aberta (CC) e sob vácuo (CLV), foi usado gel de sílica (Merck, 7734) ou sephadex LH-20 (Sigma-Aldrich). Placas comerciais (Macherey-Nagel) recobertas com gel de sílica foram utilizadas nas análises por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), enquanto que as placas para separações por cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP) foram preparadas com uma espessura de 1,0 mm, utilizando-se gel de sílica 60PF₂₅₄ (Merck, Vetec ou Macherey-Nagel). Todas as placas de alumina utilizadas foram comerciais (Macherey-Nagel). Na revelação das placas foram utilizadas radiação UV (366 e 254 nm) e solução a 5% de H₂SO₄ em etanol. Os reagentes e solventes utilizados foram produtos analíticos das marcas Synth ou Vetec.

Para identificação das substâncias isoladas, foi utilizada principalmente a técnica de Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Os espectros foram obtidos no Centro de RMN da Universidade Federal do Paraná (UFPR), em espectrômetros DPX-200, Avance-400 e/ou Avance III 600 (Bruker), operando a 4,7, 9,4 e 14,1 Tesla (T), respectivamente, e observando a 200, 400 e 600 MHz para ¹H e 50, 100 e 150 MHz para ¹³C, usando-se técnicas uni e bidimensionais. Clorofórmio e/ou metanol deuterados foram utilizados como solventes e TMS (tetrametilsilano) como referência interna. Os dados obtidos foram analisados no *software* TopSpin e comparados com aqueles publicados na literatura.

As análises de UV-vis foram realizadas em um espectrofotômetro Shimadzu UV-2401PC usando metanol como solvente no Departamento de química da UFPR.

Experimentos de dicroísmo circular (DC) foram realizados em um espectrômetro JASCO-J-815 usando metanol como solvente, concentração calculada em g 100 mL⁻¹ e as análises de rotação específica foram realizadas no Departamento de Química da UFPR em um polarímetro JASCO P-2000 utilizando

metanol ou clorofórmio a 25°C. Os valores de rotação específica foram calculados utilizando a seguinte fórmula:

$$[\alpha]_D^{25} = \frac{\text{rotação observada (graus)} \times 100}{\text{caminho ótico (dm)} \times \text{concentração (g 100 mL}^{-1})} \quad (1)$$

As análises por CG-EM (cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas) foram realizadas no Laboratório de Cromatografia da FURB (Universidade Regional de Blumenau) em um cromatógrafo a gás QP2010 Plus Shimadzu acoplado a um espectrômetro de massas com um quadrupolo como analisador, equipado com uma coluna capilar RTx-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) de fase estacionária composta de 5 % de difenil e 95 % de dimetilpolisiloxano. A temperatura inicial foi mantida a 60 °C por cinco minutos, em seguida programada até 240 °C a 3 °C min⁻¹ e finalmente mantida a 240 °C por 5 minutos. O gás de arraste foi hélio, usado a uma pressão constante de 80 KPa e fluxo constante de 1,0 mL min⁻¹. O volume de injeção foi de 1,0 µL e a amostra foi diluída em éter etílico. Os componentes do óleo foram identificados por comparação de seus índices de retenção, em relação a uma série homóloga de *n*-alcanos utilizando a fórmula apresentada a seguir, e do padrão de fragmentação observado nos espectros de massas com dados da literatura (ADAMS, 2007).

$$IR = 100 P_z + 100 [(RT(x) - RT(P_z)) / (RT(P_{z+1}) - RT(P_z))] \quad (2)$$

onde,

P_z - número de átomos de carbono do pico do padrão que elui antes

RT(x) - tempo de retenção do pico que se deseja obter o valor de IR

RT(P_z) - tempo de retenção do pico do padrão que elui antes

RT(P_{z+1}) - tempo de retenção do pico do padrão que elui depois

A análise quantitativa (CG-DIC) também foi realizada no Laboratório de Cromatografia da FURB, em um cromatógrafo a gás Shimadzu 2010, equipado com uma coluna capilar OV-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) de fase estacionária 5 % difenil e 95 % dimetilpolisiloxano e um detector por ionização de chama. As condições de operação foram as mesmas descritas acima. A quantificação dos

componentes foi obtida por integração da área, sem correção do fator de resposta do detector. A análise foi realizada em triplicata e os resultados apresentados como a média \pm desvio padrão.

As análises por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foram realizadas no Departamento de Química da UFPR em um equipamento HPLC Waters composto por bomba quaternária, injetor automático, detector PDA 2998 e acoplado a um sistema de aquisição de dados Empower *software*. As colunas utilizadas são de fase estacionária C18, tamanho de partícula de 5 μm e 250 mm de comprimento, a coluna semipreparativa (Phenomenex) tem 10 mm de diâmetro e a coluna analítica (Macherey-Nagel) tem 4,6 mm de diâmetro e uma pré-coluna (Phenomenex) C18 com 3 mm de comprimento. As fases móveis utilizadas foram solventes orgânicos grau HPLC, filtrados em membranas de náilon (0,45 μm) (Millipore) e água ultrapura (Milli-Q) desgaseificados por 30 minutos em um banho de ultrassom. As amostras solubilizadas foram filtradas em filtro Millex HV de PVDF (0,45 μm) da Millipore (Cork, Ireland). A detecção dos compostos foi realizada em diferentes comprimentos de onda, variando de 210 a 400 nm.

As substâncias inéditas isoladas foram submetidas à análise de massas de alta resolução em um espectrômetro de massas Micromass ESI-Qq Tof no Laboratório de Espectrometria de Massas ThoMSon da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) ou em um Thermo Scientific LTQ-Orbitrap XL no Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFPR, ambos com ionização de eletronebulização. As amostras foram solubilizadas em metanol/H₂O (7:3, v/v) com Li⁺ ou H⁺, e posteriormente submetidas à infusão direta na fonte de ionização com fluxo de 5 $\mu\text{L min}^{-1}$.

Algumas das substâncias isoladas conhecidas ou algumas frações foram submetidas à análise por espectrometria de massas de baixa resolução. Essas análises foram realizadas no Departamento de Química da UFPR em um espectrômetro de massas Thermo Fisher Scientific Inc. LTQ XL Linear, utilizando um *ion trap* como analisador e *software* LTQ tune plus (2.6.0.10) e Xcalibur 2.1. A concentração das amostras analisadas foi de aproximadamente 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

3.2. MATERIAL VEGETAL

Sinningia leucotricha foi coletada de uma população natural de São Jerônimo da Serra, estado do Paraná (23°43'40"S; 50°44'27" W), pelo Prof. Dr. Ricardo Tadeu de Faria, do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina (UEL). O material foi identificado pela Dra. Ana Odete Vieira, que depositou uma exsicata no Herbário da UEL (FUEL 48757). As coletas foram realizadas em março de 2008 (amostra SLA) e maio de 2009 (amostra SLB). O material botânico consistiu de tubérculos, com diâmetros variando entre 5 e 15 cm. Os tubérculos maiores foram usados para o estudo fitoquímico, enquanto que os menores foram plantados em vasos e mantidos em cultivo na cidade de Curitiba. Esse material cultivado forneceu uma terceira amostra em janeiro de 2012 (amostra SLC), sendo que uma exsicata foi depositada no herbário do Museu Botânico Municipal de Curitiba (MBM 118769).

Tubérculos de *Sinningia canescens* foram coletados em Ponta Grossa, Paraná (25°12'10"S; 49°56'38"W), pelo Prof. Dr. Armando Carlos Cervi (em memória), em maio de 2010. Uma exsicata foi depositada no herbário do Museu Botânico Municipal de Curitiba (MBM 363.740).

3.3. PREPARAÇÃO DE EXTRATOS E FRAÇÕES

O material botânico foi secado em estufa a 40 °C e posteriormente pulverizado. Alguns extratos foram obtidos pela técnica de maceração a frio (SLA, SLC e SC), na qual o pó dos tubérculos foi deixado em contato com o solvente extrator por 24 horas, a temperatura ambiente. Após esse período, a solução foi filtrada e o solvente removido em rotaevaporador. Este procedimento foi repetido três vezes, rendendo ao término o respectivo extrato. O volume de solvente utilizado foi de 500 mL para cada 100 g de material. Os extratos de SLB foram obtidos por extração em sohxlet.

Os tubérculos secos de SLA (135,00 g) foram extraídos por maceração a frio com éter de petróleo, acetato de etila e etanol, rendendo os respectivos extratos, SLA1, SLA2 e SLA3 (Tabela 03; página 61, Esquema 01; página 65).

TABELA 03. EXTRATOS OBTIDOS DE *S. leucotricha* (SLA) E SEUS RENDIMENTOS A PARTIR DOS TUBÉRCULOS SECOS.

Extrato	Solvente	Massa (g)	Rendimento (%)
SLA1	Éter de petróleo	1,11	0,82
SLA2	Acetato de etila	1,24	0,92
SLA3	Etanol	5,11	3,78

Os tubérculos secos de SLB (56,2 g) foram extraídos em sohxlet com éter de petróleo, diclorometano, acetona e etanol, sucessivamente, durante 2 horas para cada solvente (Tabela 04; página 61, Esquema 03; página 69). A evaporação dos solventes rendeu os respectivos extratos SLB1, SLB2, SLB3 e SLB4.

TABELA 04. EXTRATOS OBTIDOS DE *S. leucotricha* (SLB) E SEUS RENDIMENTOS A PARTIR DOS TUBÉRCULOS SECOS.

Extrato	Solvente	Massa (g)	Rendimento (%)
SLB1	Éter de petróleo	0,418	0,64
SLB2	Diclorometano	0,260	0,46
SLB3	Acetona	0,426	0,76
SLB4	Etanol	7,620	13,56

Outra amostra de SLB (12,45 g) foi extraída a frio com etanol, fornecendo o extrato total (SLET – 554,0 mg), do qual uma parte (400,0 mg) foi particionada com hexano, acetato de etila e butanol, resultando nas respectivas frações SLET1 (40,5 mg), SLET2 (87,0 mg) e SLET3 (116,0 mg), as quais foram utilizadas nos ensaios de atividade citotóxica.

Os tubérculos secos de SLC (60,9 g) foram extraídos por maceração a frio, com hexano, diclorometano, acetato de etila e etanol, rendendo os respectivos extratos SLC1, SLC2, SLC3 e SLC4 (Tabela 05; página 62, Esquema 06; página 72).

TABELA 05. EXTRATOS OBTIDOS DE *S. leucotricha* (SLC) E SEUS RENDIMENTOS A PARTIR DOS TUBÉRCULOS SECOS.

Fração	Solvente	Massa (g)	Rendimento (%)
SLC1	Hexano	0,285	0,47
SLC2	Diclorometano	0,979	1,61
SLC3	Acetato de etila	0,230	0,38
SLC4	Etanol	7,860	12,91

Folhas de *S. leucotricha* foram coletadas em maio de 2009, provenientes dos tubérculos cultivados vindos da primeira extração. O material seco (9,2 g) foi triturado e extraído a frio com hexano (SLFHEX), diclorometano (SFLDCM) e etanol (SLFEtOH). Esses extratos renderam 0,37 g, 0,46 g e 0,95 g, respectivamente.

Tubérculos secos de *S. canescens* (322,2 g) foram moídos e extraídos com etanol a frio, resultando no extrato etanólico total (25,1 g). Esse extrato foi submetido à partição líquido-líquido com hexano, diclorometano, acetato de etila e butanol, resultando nas respectivas frações: SCA, SCB, SCC e SCD, além de uma fração que precipitou durante a evaporação do extrato butanólico que foi nomeada de SCE (Tabela 06; página 62, Esquema 08; página 79).

TABELA 06. FRAÇÕES OBTIDAS DE *S. canescens* (SC) E SEUS RENDIMENTOS A PARTIR DO EXTRATO ETANÓLICO TOTAL.

Fração	Solvente	Massa (g)	Rendimento (%)
SCA	Hexano	1,46	5,82
SCB	Diclorometano	1,82	7,25
SCC	Acetato de etila	7,72	30,76
SCD	Butanol	6,20	24,70
SCE	Ppt Butanol	0,0225	0,09

3.4. ISOLAMENTO DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

3.4.1. *Sinningia leucotricha* A (SLA)

Após análise por CCDA, os extratos em éter de petróleo (SLA1 - 1,11g) e em acetato de etila (SLA2 - 1,24 g) foram reunidos. O extrato reunido foi submetido à CLV, eluída com hexano, diclorometano, diclorometano:acetato de etila/1:1, acetato de etila e metanol, rendendo as respectivas frações (SLA1-5) após evaporação do solvente (Tabela 07; página 63, Esquema 01; página 65). O rendimento total deste fracionamento não resultou em uma recuperação de 100 % do material, pois uma grande parte ficou na fase aquosa que foi desprezada neste estudo.

TABELA 07. RENDIMENTO DAS FRAÇÕES DOS EXTRATOS EM ÉTER DE PETRÓLEO E ACETATO DE ETILA REUNIDOS (SLA).

Fração	Solvente	Massa (mg)	Rendimento (%)
SLA1	Hexano	117,1	4,98
SLA2	Diclorometano	521,0	22,17
SLA3	Diclorometano:Acetato de etila/1:1	455,6	19,39
SLA4	Acetato de etila	192,7	8,20
SLA5	Metanol	216,7	9,22

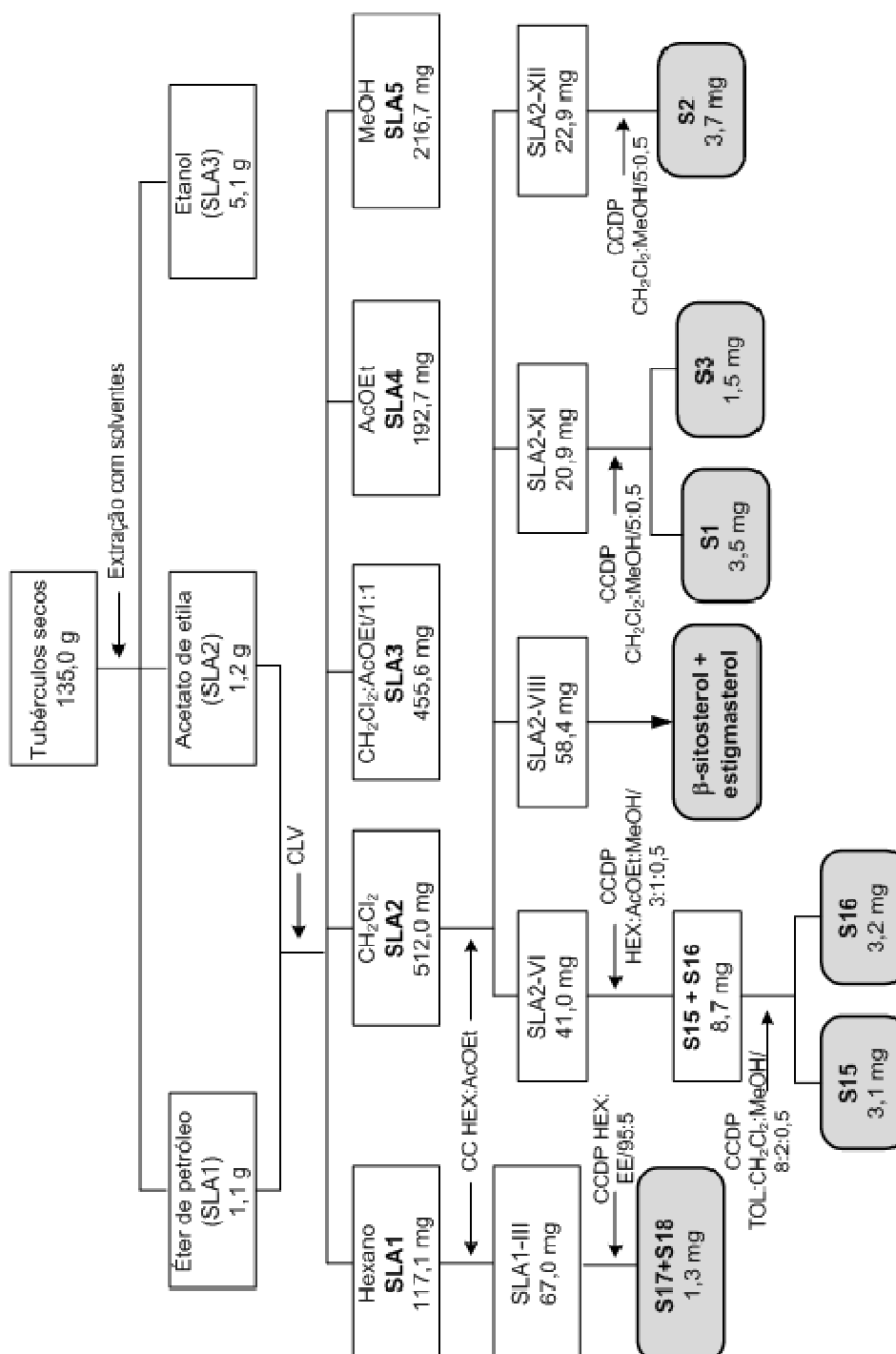
A fração SLA1 (117,1 mg) foi submetida à uma CC eluída em gradiente de acetato de etila em hexano (99:1 (100 mL), 98:2 (50 mL), 95:5 (20 mL), 9:1 (20 mL)), depois acetato de etila puro (40 mL) e por fim metanol (40 mL). Desta separação foram obtidas 10 novas frações, das quais apenas a SLA1-III (67,0 mg) foi purificada por CCDP em hexano:éter etílico/95:5, resultando no isolamento de **S17 + S18** (1,3 mg) (Esquema 01; página 65).

A fração SLA2 (521,0 mg) foi submetida à CC eluída primeiramente em hexano (300 mL), depois em gradiente de acetato de etila em hexano (99:1, 98:2, 95:5, 9:1, 8:2, 7:3, 1:1) utilizando 50, 100, 100, 100, 175, 100 e 20 mL de cada respectivamente, posteriormente acetato de etila (100 mL) e metanol (100 mL) puros. Foram obtidas 89 frações de 10 mL cada que foram reunidas em 13 grupos (I - XIII) (Tabela 08; página 64, Esquema 01; página 65). O grupo SLA2-VI (41,0 mg) foi submetido à CCDP em hexano:acetato de etila:metanol/3:1:0,5, rendendo **S15 + S16** (8,7 mg). Outra CCDP em tolueno:diclorometano:metanol/8:2:0,5 resultou na

separação de **S15** (3,1 mg) e **S16** (3,2 mg). O grupo SLA2-VIII (58,4 mg) continha a mistura de β -sitosterol e estigmasterol. Os grupos SLA2-XI (20,9 mg) e SLA2-XII (22,9 mg) foram submetidos separadamente a uma CCDP em diclorometano:metanol/5:0,05, resultando no isolamento de **S1** (3,5 mg), **S2** (3,7 mg) e **S3** (1,5 mg) (Esquema 01; página 65).

TABELA 08. FRACIONAMENTO DA FRAÇÃO SLA2.

Grupo	Frações	Massa (mg)	Solvente (v/v)	Substâncias identificadas / isoladas (mg)
SLA2-I	01-22	15,9	Hexano	-
SLA2-II	23-25	86,0	Hex:AcOEt/98:2	-
SLA2-III	26-31	35,8	Hex:AcOEt/98:2	-
SLA2-IV	32-35	8,0	Hex:AcOEt/95:5	-
SLA2-V	36-38	26,9	Hex:AcOEt/95:5	-
SLA2-VI	39-45	41,0	Hex:AcOEt/9:1	S15 (3,1) e S16 (3,2)
SLA2-VII	46-47	20,1	Hex:AcOEt/9:1	-
SLA2-VIII	48-51	58,4	Hex:AcOEt/9:1	β -sitosterol+estigmasterol
SLA2-IX	52-53	5,9	Hex:AcOEt/9:1	-
SLA2-X	54-60	18,5	Hex:AcOEt/8:2	-
SLA2-XI	61-64	20,9	Hex:AcOEt/8:2	S1 (3,5) e S3 (1,5)
SLA2-XII	65-74	22,9	Hex:AcOEt/7:3	S2 (3,7)
SLA2-XIII	75-88	62,4	Hex:AcOEt/1:1, AcOEt, MeOH	-



ESQUEMA 01. Procedimento experimental do fracionamento dos tubérculos de *S. leucotricha* da primeira extração (SLA).

A fração SLA3 (455,6 mg) foi submetida à CLV eluída com hexano (SLA31), diclorometano (SLA32), diclorometano:acetona/9:1 (SLA33) e 7:3 (SLA34), acetona (SLA35) e metanol (SLA36) (Tabela 09; página 66, Esquema 02; página 67).

TABELA 09. FRACIONAMENTO DA FRAÇÃO SLA3, RENDIMENTOS E SUBSTÂNCIAS ISOLADAS.

Fração	Solvente	Massa (mg)	Rendimento (%)	Substâncias isoladas (mg)
SLA31	Hexano	3,2	0,70	-
SLA32	Diclorometano	43,9	9,63	S14 (1,6), S15 + S16 (8,5)
SLA33	Diclorometano: Acetona/9:1	118,1	25,92	S1 (4,9), S2 (3,2) e S14 (5,8)
SLA34	Diclorometano: Acetona/7:3	187,7	41,20	S21 + S22 (5,2)
SLA35	Acetona	41,2	9,05	-
SLA36	Metanol	40,2	8,82	-

A fração SLA32 (43,9 mg) foi submetida à uma CCDP em diclorometano, resultando no isolamento de **S14** (1,6 mg), **S15** + **S16** (8,5 mg) e β -sitosterol + estigmasterol (14,7 mg).

A fração SLA33 (118,1 mg) foi submetida à CC eluída em diclorometano (50 mL), gradiente de acetona em diclorometano (99:1, 97:3, 95:5, 9:1, 1:1, 50 mL cada), e finalmente metanol (50 mL). Este processo resultou em 34 frações que foram agrupadas em 08 grupos (I - VIII). O grupo SLA33-II (36,3 mg) foi submetido à CCDP em diclorometano:acetona/98:2, resultando no isolamento de **S2** (3,2 mg) e **S14** (5,8 mg). O grupo SLA33-III (11,8 mg) foi identificado como contendo a substância **S2**, e do grupo SLA33-V (18,8 mg) foi isolado **S1** (4,9 mg) após CCDP em diclorometano:acetato de etila/98:2.

A fração SLA34 (187,7 mg) foi submetida à CC eluída em gradiente de metanol em diclorometano resultando em 14 grupos (I – XIV). O grupo SLA34-VIII (74,7 mg) foi purificado por CCDP em diclorometano:metanol/97:3, rendendo 6 subgrupos. O subgrupo SLA34-VIII-6 (23,6 mg) foi novamente purificada por CCDP em hexano:acetona/2:1, resultando em **S21** + **S22** (5,2 mg) (Tabela 09; página 66, Esquema 02; página 67).

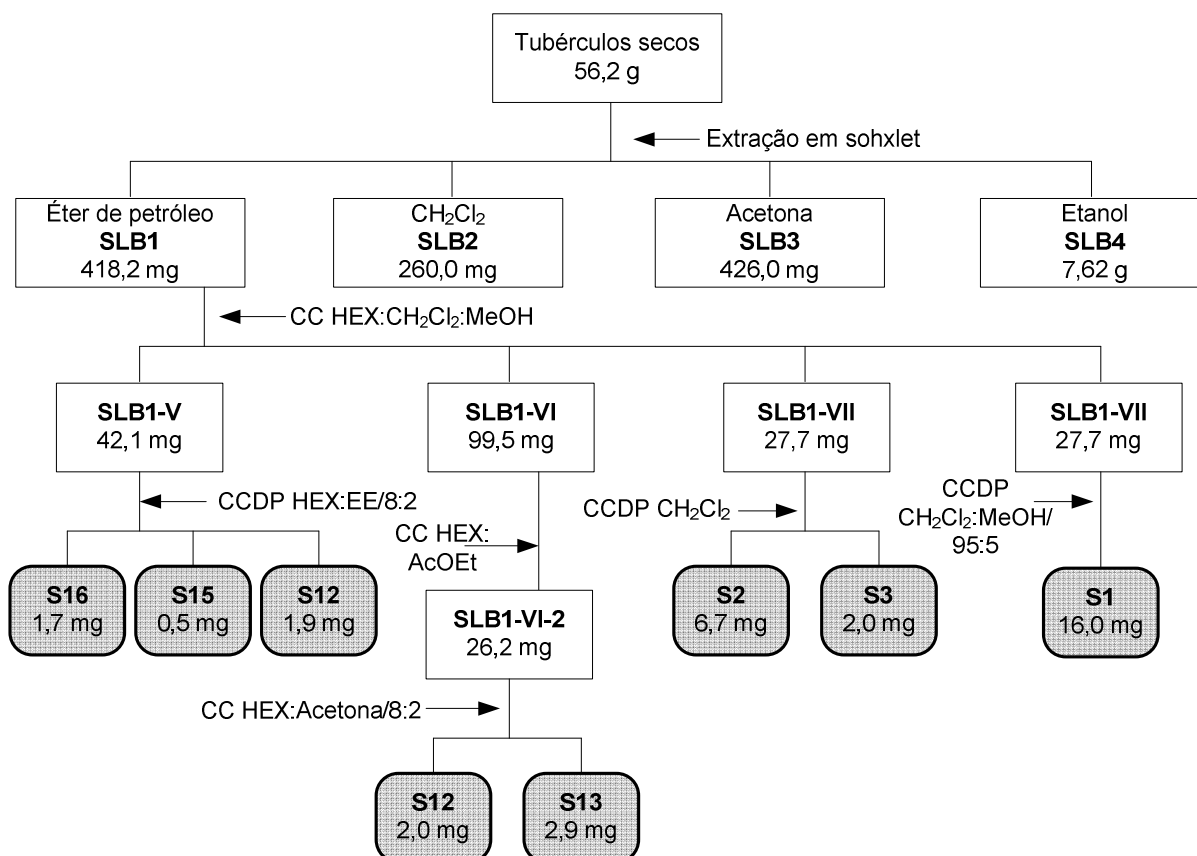
3.4.2. *Sinningia leucotricha* B (SLB)

O extrato SLB1 foi submetido a uma CC em hexano (100 mL), hexano:diclorometano/2:1 (75 mL), 1:1 (60 mL), diclorometano (150 mL), diclorometano:metanol/95:5 (50 mL) e 9:1 (50 mL), resultando em dez grupos (I - X) (Tabela 10; página 68, Esquema 03; página 69). O grupo SLB1-V (42,1 mg) foi submetido à uma CCDP em hexano:éter etílico/8:2, resultando em 5 subgrupos (1 – 5). O subgrupo SLB1-V-1 (4,4 mg) foi submetido a outra purificação por CCDP em tolueno:diclorometano:metanol/8:2:0,5, rendendo as substâncias **S12** (1,9 mg), **S15** (0,5 mg) e **S16** (1,7 mg).

O grupo SLB1-VI (99,5 mg) foi submetido à CC eluída em hexano (30 mL), gradiente de acetato de etila em hexano 95:5 (300 mL), 9:1 (20 mL) e 1:1 (50 mL) e acetato de etila puro (50 mL), resultando em 36 frações agrupadas em 7 subgrupos (1 – 7). O subgrupo SLB1-VI-2 (26,2 mg) foi purificado por CCDP em hexano:acetona/8:2, resultando no isolamento de **S12** (2,0 mg) e **S13** (2,9 mg). As substâncias **S1**, **S2** e **S3** foram isoladas novamente (Tabela 10; página 68, Esquema 03; página 69).

TABELA 10. FRACIONAMENTO DA FRAÇÃO SLB1 COM AS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS.

Grupo	Frações	Massa (mg)	Solvente (v/v)	Substâncias isoladas (mg)
SLB1-I	1-19	21,0	Hexano	-
SLB1-II	20-22	49,4	Hex:CH ₂ Cl ₂ /2:1	-
SLB1-III	23-27	7,6	Hex:CH ₂ Cl ₂ /1:1	-
SLB1-IV	28-30	12,2	Hex:CH ₂ Cl ₂ /1:1	-
SLB1-V	31-35	42,1	Hex:CH ₂ Cl ₂ /1:1	S12 (1,9), S15 (0,5) e S16 (1,7)
SLB1-VI	36-46	99,5	CH ₂ Cl ₂	S12 (2,0) e S13 (2,9)
SLB1-VII	47-69	27,7	CH ₂ Cl ₂ :MeOH/95:5	S2 (6,7) e S3 (2,0)
SLB1-VIII	70-71	1,0	CH ₂ Cl ₂ :MeOH/95:5	-
SLB1-IX	72-75	73,5	CH ₂ Cl ₂ :MeOH/95:5	S1 (16,0)
SLB1-X	76-79	33,6	MeOH	-



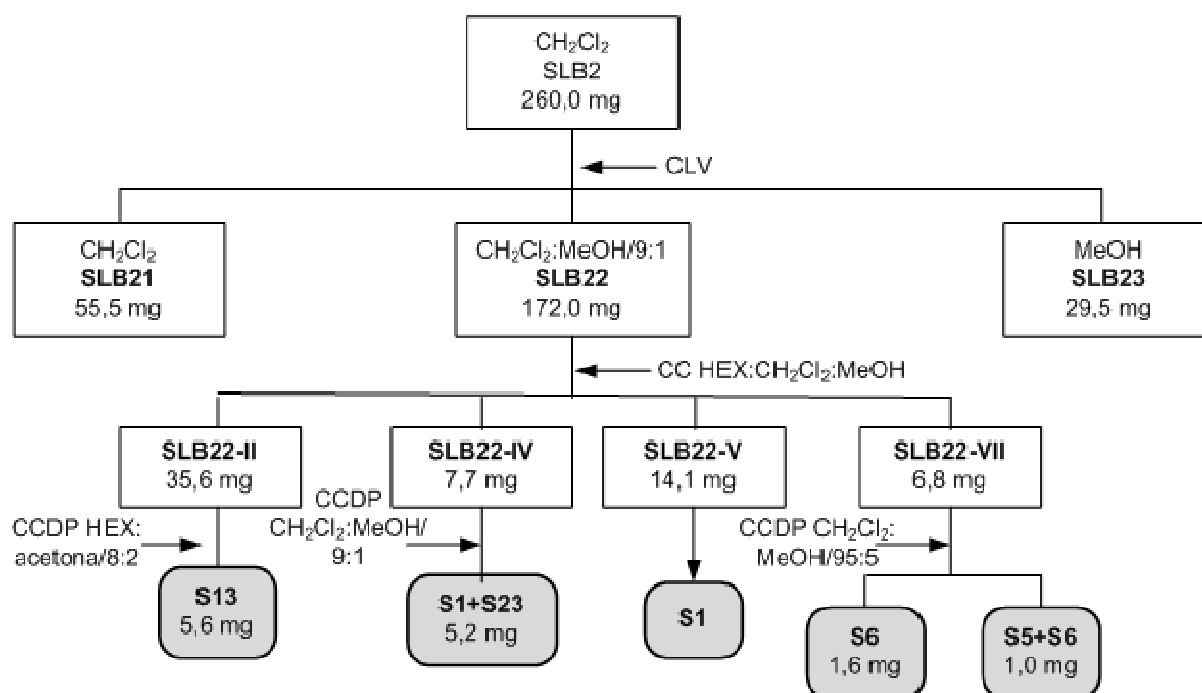
ESQUEMA 03. Procedimento experimental do fracionamento dos tubérculos de *S. leucotricha* da segunda extração (SLB).

O extrato SLB2 (260,0 mg) foi submetido à CLV em diclorometano, diclorometano:metanol/9:1 e metanol, resultando nas respectivas frações SLB21 (55,2 mg), SLB22 (172,0 mg) e SLB23 (29,5 mg).

A fração SLB22 foi submetida à CC em hexano (450 mL), hexano: diclorometano/2:1 (120 mL) e 1:1 (40 mL), diclorometano (100 mL), diclorometano:metanol/9:1 (50 mL) e 1:1 (30 mL), resultando em 8 grupos (I - VIII) (Tabela 11; página 70, Esquema 04; página 70). O grupo SLB22-II (35,6 mg) foi purificado por CCDP em hexano:acetona/8:2, resultando no isolamento de **S13** (5,6 mg). A partir do grupo SLB22-IV (7,7 mg), por CCDP em diclorometano:metanol/9:1, foi isolada **S1** + **S23** (5,2 mg). O grupo SLB22-V (14,1 mg) foi identificado como contendo a substância **S1**. O grupo SLB22-VII (6,8 mg) foi submetido à CCDP em diclorometano:metanol/95:5 resultando no isolamento de **S6** (1,6 mg) e **S5** + **S6** (1,0 mg) (Tabela 11; página 70, Esquema 04; página 70).

TABELA 11. FRACIONAMENTO DA FRAÇÃO SLB22 COM AS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS.

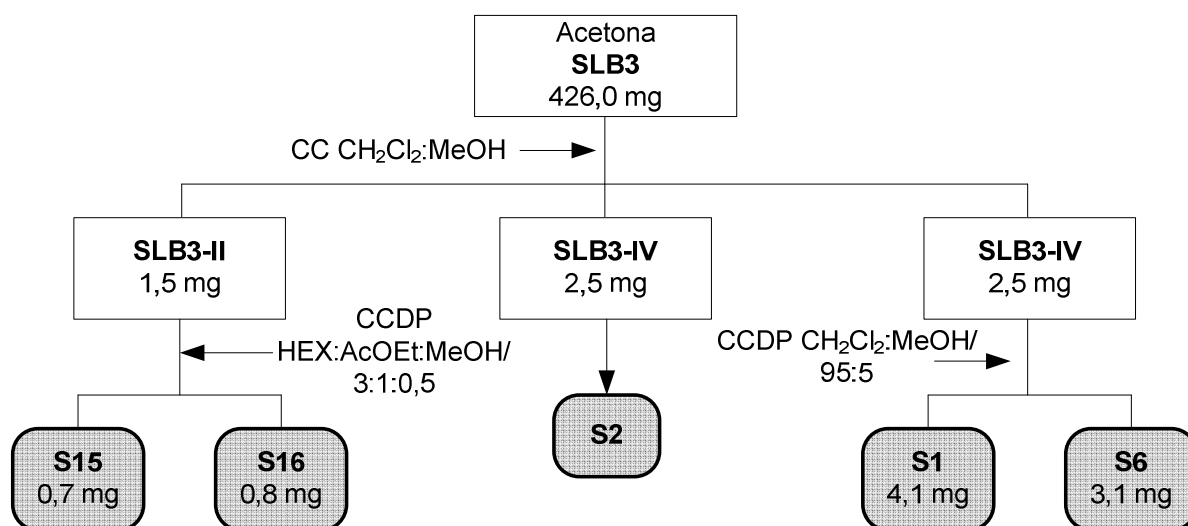
Grupo	Frações	Massa (mg)	Solvente (v/v)	Substâncias isoladas / identificadas (mg)
SLB22-I	1-10	5,3	Hexano	-
SLB22-II	11-17	35,6	Hexano	S13 (5,6)
SLB22-III	18-19	5,2	Hexano	-
SLB22-IV	20-23	7,7	Hexano	S1 + S23 (5,2)
SLB22-V	24-38	14,1	Hexano	S1
SLB22-VI	39-40	8,3	Hexano	-
SLB22-VII	41-46	6,8	Hexano	S5 + S6 (1,0) e S6 (1,6)
SLB22-VIII	47-78	109,1	Hex:CH ₂ Cl ₂ , CH ₂ Cl ₂ , CH ₂ Cl ₂ :MeOH	-

ESQUEMA 04. Fracionamento do extrato em CH₂Cl₂ (SLB2) dos tubérculos de *S. leucotricha*.

O extrato SLB3 (426,0 mg) foi submetido à CC eluída primeiro com diclorometano (250 mL), posteriormente com gradiente de metanol em diclorometano (95:5, 9:1, 8:2, 1:1, 100 mL cada) e finalmente metanol (30 mL), sendo recolhidas 72 frações de 10 mL cada, as quais foram reunidas em 07 grupos (I - VII). Destes grupos foram isoladas novamente as substâncias **S1**, **S2**, **S6**, **S15** e **S16** (Tabela 12; página 71, Esquema 05; página 71).

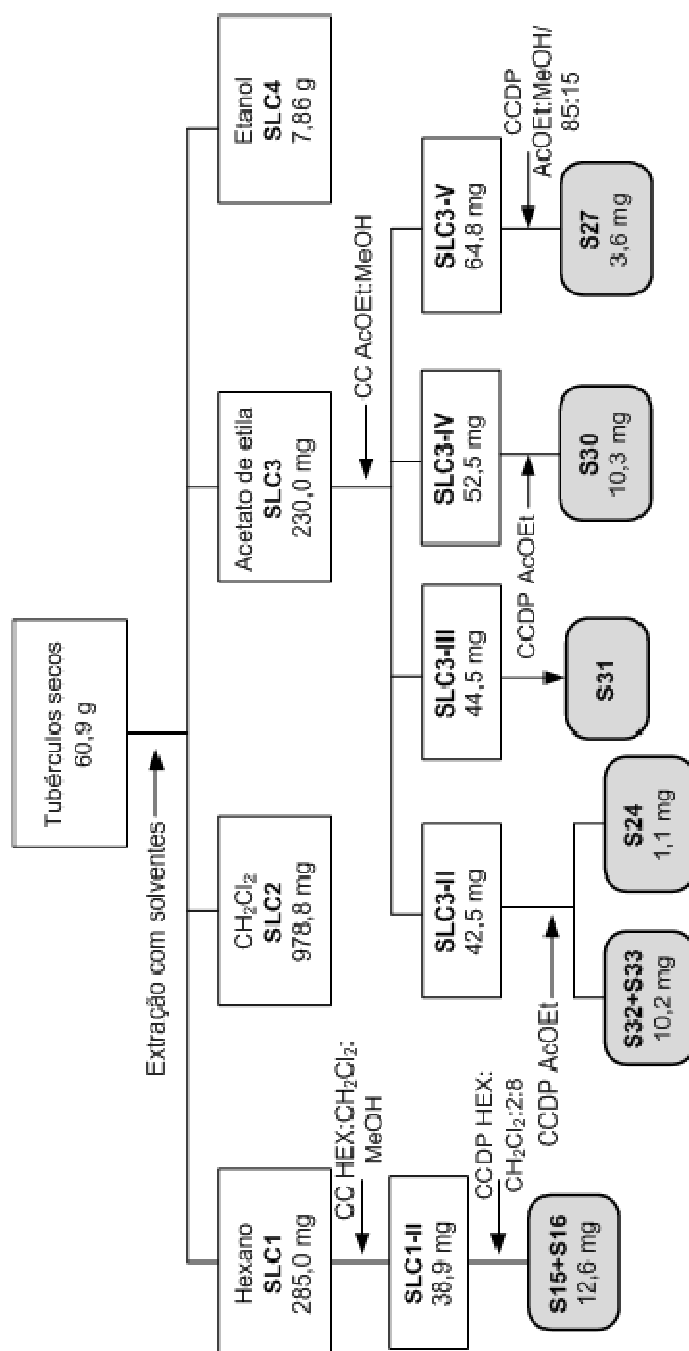
TABELA 12. FRACIONAMENTO DO EXTRATO EM ACETONA (SLB3) COM AS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS.

Grupo	Frações	Massa (mg)	Solvente (v/v)	Substâncias isoladas / identificadas (mg)
SLB3-I	1-7	4,4	CH ₂ Cl ₂	-
SLB3-II	8-9	1,5	CH ₂ Cl ₂	S15 (0,7) + S16 (0,8)
SLB3-III	10-17	6,7	CH ₂ Cl ₂	-
SLB3-IV	18-23	2,5	CH ₂ Cl ₂	S2
SLB3-V	24-33	47,8	CH ₂ Cl ₂ :MeOH/95:5	S1 (4,1) e S6 (3,1)
SLB3-VI	35-55	107,0	CH ₂ Cl ₂ :MeOH/9:1	-
SLB3-VII	56-72	99,5	CH ₂ Cl ₂ :MeOH/8:	-

ESQUEMA 05. Fracionamento do extrato em acetona (SLB3) dos tubérculos de *S. leucotricha*.

3.4.3. *Sinningia leucotricha* C (SLC)

SLC1 (0,285 g) foi submetido à CC eluída em hexano (300 mL), hexano:diclorometano/1:1 (60 mL), diclorometano (100 mL), gradiente de metanol em diclorometano 9:1 (50 mL), 7:3 (50 mL) e 1:1 (30 mL), além de metanol puro (50 mL), resultando em 68 frações que foram agrupadas em 4 grupos (I – IV). O grupo SLC1-II (38,9 mg) foi purificado por CC DP em diclorometano:hexano/8:2, resultando no isolamento de **S15+ S16** (12,6 mg) (Esquema 06; página 72).



ESQUEMA 06. Procedimento experimental do fracionamento dos tubérculos de *S. leucotricha* da terceira extração (SLC) e dos extratos em hexano (SLC1) e acetato de etila (SLC3).

SLC2 (0,979 g) foi submetido à CC em gradientes de acetato de etila em hexano (9:1 (150 mL), 8:2 (300 mL), 75:25 (80 mL), 7:3 (230 mL), 2:1 (90 mL), 1:1 (50 mL), 1:2 (180 mL), 1:3 (80 mL), 1:5 (60 mL)), acetato de etila puro (50 mL), gradiente de metanol em acetato de etila (9:1 (200 mL), 8:2 (100 mL), 7:3 (200 mL), 1:1 (100 mL)) e por fim metanol puro (200 mL), resultando em 145 frações reunidas em 34 grupos (I – XXXIV).

O grupo SLC2-VII (23,2 mg) foi purificado por CCDP em hexano:acetona/95:5 resultando no isolamento de **S15** (1,6 mg) e **S16** (1,5 mg). No grupo SLC2-VIII (11,7 mg) foi identificado a substância **S16**. O grupo SLC2-XII (8,3 mg) foi submetido à CCDP em diclorometano, resultando na substância **S8** (1,8 mg). O grupo SLC2-XIII (25,0 mg) foi purificado por CCDP em diclorometano:metanol/5:0,05, resultando em **S1 + S23** (5,9 mg).

Do grupo SLC2-XXIII (82,5 mg) foi isolada a substância **S24** (16,3 mg) após purificação por CCDP em acetato de etila. O grupo SLC2-XXV (5,4 mg) continha **S26**. O grupo SLC2-XXIX (233,7 mg) foi submetido à uma nova CC eluída com gradiente de metanol em diclorometano, 95:5 (50 mL), 9:1 (80 mL), 85:15 (30 mL), 8:2 (25 mL), 7:3 (50 mL), 2:1 (30 mL), 1:1 (60 mL), 1:2 (60 mL) e metanol puro (100 mL), rendendo 40 frações, reunidas em 7 subfrações (1 – 7). A subfração SLC2-XXIX-4 (54,3 mg) foi submetida à CCDP em diclorometano:metanol/9:1, resultando no isolamento de **S30** (7,9 mg) e **S31** (9,8 mg).

O grupo SLC2-XXX (51,9 mg) foi purificado por CCDP em diclorometano:metanol/8:2, resultando no isolamento de **S25** (7,1 mg). O grupo SLC2-XXXI (19,4 mg) foi identificado como contendo a substância **S30**. O grupo SLC2-XXXIII (136,7 mg) foi purificado por CC em sephadex, eluída com diclorometano:metanol/1:1, resultando em 4 subgrupos (1 – 4). O subgrupo SLC2-XXXIII-3 (31,0 mg) foi submetido a CCDP em acetato de etila:metanol/7:3, dando **S27** (1,9 mg) (Tabela 13; página 74, Esquema 07; página 76).

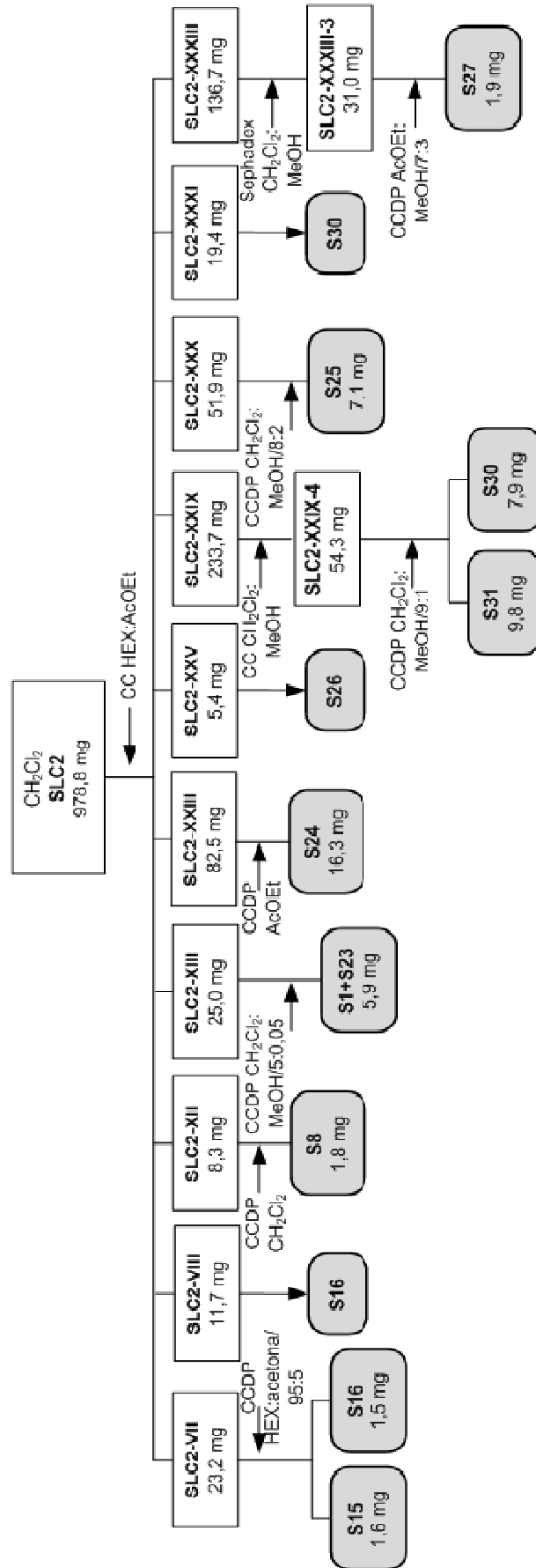
TABELA 13. FRACIONAMENTO DO EXTRATO SLC2 COM AS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS.

Grupo	Frações	Massa (mg)	Solvente (v/v)	Substâncias isoladas / identificadas (mg)
SLC2-I	01-02	7,9	Hexano	-
SLC2-II	03	3,5	Hex:AcOEt/9:1	-
SLC2-III	04-06	3,7	Hex:AcOEt/9:1	-
SLC2-IV	07-09	24,9	Hex:AcOEt/9:1	-
SLC2-V	10-12	8,1	Hex:AcOEt/9:1	-
SLC2-VI	13-14	3,4	Hex:AcOEt/8:2	-
SLC2-VII	15-18	23,2	Hex:AcOEt/8:2	S15 (1,6) e S16 (1,5)
SLC2-VIII	19-20	11,7	Hex:AcOEt/8:2	S16
SLC2-IX	21-25	8,6	Hex:AcOEt/8:2	-
SLC2-X	26	0,6	Hex:AcOEt/8:2	-
SLC2-XI	27-28	3,9	Hex:AcOEt/8:2	-
SLC2-XII	29-41	8,3	Hex:AcOEt/8:2	S8 (1,8)
SLC2-XIII	42-44	25,0	Hex:AcOEt/7:3	S1 + S23 (5,9)
SLC2-XIV	45-48	10,5	Hex:AcOEt/7:3	-
SLC2-XV	49-53	9,8	Hex:AcOEt/7:3	-
SLC2-XVI	54-60	9,5	Hex:AcOEt/7:3	-
SLC2-XVII	61-64	5,0	Hex:AcOEt/7:3	-
SLC2-XVIII	65-72	10,3	Hex:AcOEt/2:1	-
SLC2-XIX	73-74	2,8	Hex:AcOEt/1:1	-
SLC2-XX	75-78	11,1	Hex:AcOEt/1:2	-
SLC2-XXI	79-81	24,1	Hex:AcOEt/1:2	-
SLC2-XXII	82-84	18,4	Hex:AcOEt/1:2	-
SLC2-XXIII	85-91	82,5	Hex:AcOEt/1:2	S24 (16,3)
SLC2-XXIV	92-93	3,6	Hex:AcOEt/1:3	-
SLC2-XXV	94-96	5,4	Hex:AcOEt/1:5	S26
SLC2-XXVI	97-108	12,4	AcOEt	-
SLC2-XXVII	109-111	4,0	AcOEt:MeOH/9:1	-
SLC2-XXVIII	112-116	28,2	AcOEt:MeOH/9:1	-
SLC2-XXIX	117-119	207,8	AcOEt:MeOH/9:1	S30 (7,9) e S31 (9,8)
SLC2-XXX	120-124	51,9	AcOEt:MeOH/9:1	S25 (7,1)
SLC2-XXXI	125-127	19,4	AcOEt:MeOH/9:1	S30
SLC2-XXXII	128-131	14,6	AcOEt:MeOH/8:2	-
SLC2-XXXIII	132-142	136,7	AcOEt:MeOH/7:3	S27 (1,9)
SLC2-XXXIV	143-145	137,3	AcOEt:MeOH/1:1, MeOH	-

O extrato SLC3 (230 mg) foi submetido à CC eluída em gradiente de metanol em acetato de etila, 9:1 (50 mL), 8:2 (60 mL) e metanol (50 mL), resultando em 13 frações reunidas em 6 grupos (I – VI). O grupo SLC3-II (42,5 mg) foi submetido à CCDP em acetato de etila, resultando no isolamento de **S24** (1,1 mg) e **S32 + S33** (10,2 mg). O grupo SLC3-III (44,5 mg) continha **S31**. O grupo SLC3-IV (52,5 mg) foi purificado por CCDP em acetato de etila, rendendo **S30** (10,3 mg). O grupo SLC3-V (64,8 mg) foi submetido à CCDP em acetato de etila:metanol/85:15, resultando no isolamento de **S27** (3,6 mg) (Tabela 14; página 75, Esquema 06; página 72).

TABELA 14. FRACIONAMENTO DO EXTRATO SLC3 COM AS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS.

Grupo	Frações	Massa (mg)	Solvente (v/v)	Substâncias isoladas / identificadas (mg)
SLC3-I	01	19,2	AcOEt	-
SLC3-II	02-03	42,5	AcOEt	S24 (1,1) e S32 + S33 (10,2)
SLC3-III	04-05	44,5	AcOEt	S31
SLC3-IV	06-07	52,5	AcOEt:MeOH/9:1	S30 (10,3)
SLC3-V	08-12	64,8	AcOEt:MeOH/8:2	S27 (3,6)
SLC3-VI	13	2,0	MeOH	-



ESQUEMA 07. Fracionamento do extrato em CH_2Cl_2 (SLC2) dos tubérculos de *S. leucotricha*.

3.4.4. *Sinningia canescens* (SC)

A fração SCA (1,5 g) foi submetida à CC eluída com pentano (450 mL), pentano:diclorometano/2:1 (240 mL) e 1:1 (140 mL), diclorometano (225 mL), diclorometano:metanol/95:5 (200 mL), 9:1 (50 mL) e 1:1 (60 mL), além de metanol puro (150 mL). Este processo resultou em 80 frações que foram reunidas em 19 grupos (I – XIX).

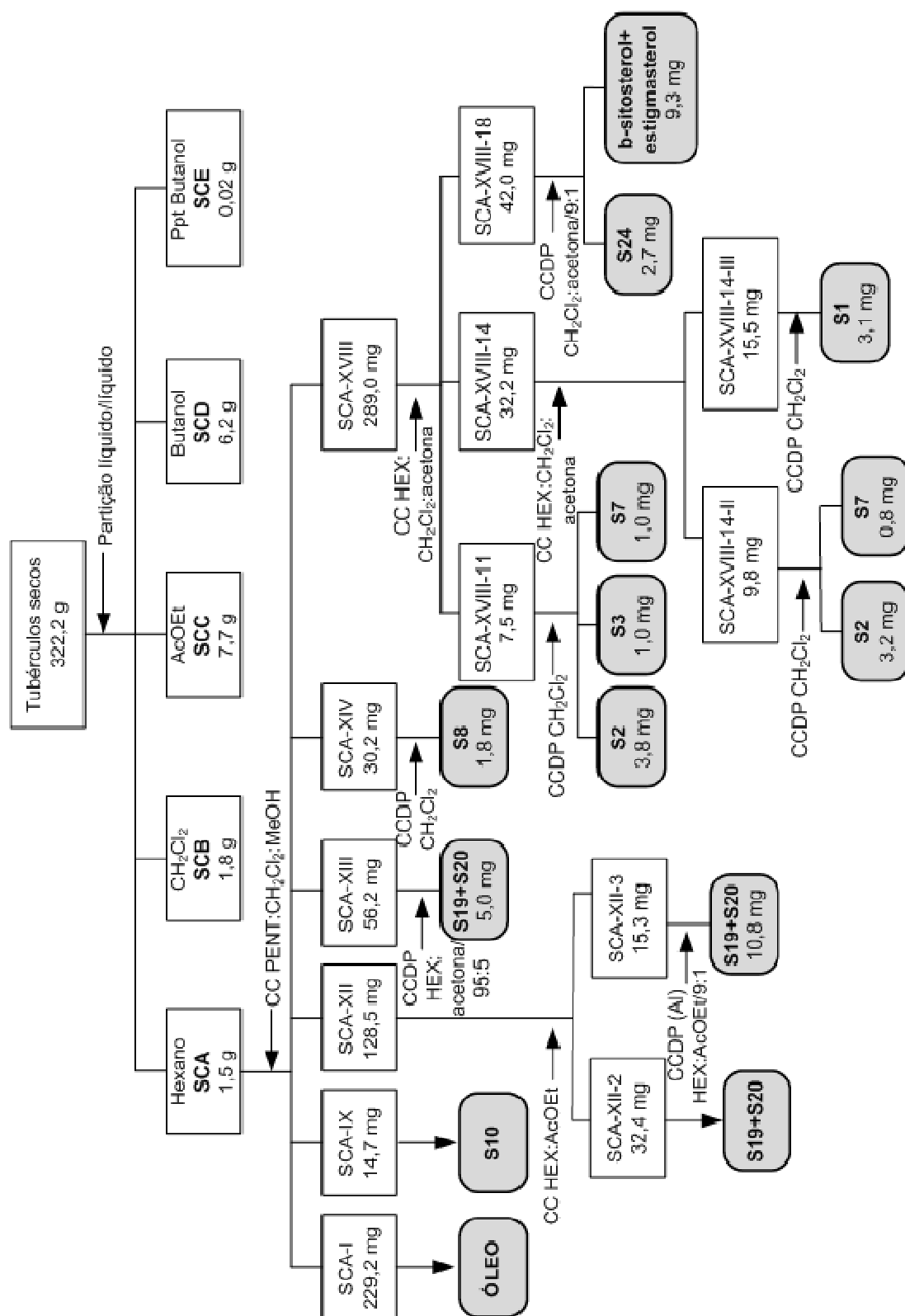
O primeiro grupo (SCA-I), eluído em pentano resultou em 229,2 mg de um óleo incolor que foi submetido à análise por CG-EM e CG-DIC. O grupo SCA-IX (14,7 mg) continha a substância **S10** impura. O grupo SCA-XII (128,5 mg) foi submetido à CC eluída com gradiente de acetato de etila em hexano 98:2 (270 mL), 96:4 (70 mL), 9:1 (30 mL), 8:2 (30 mL), 7:3 (20 mL) e acetato de etila puro (50 mL). Deste fracionamento foram obtidas 35 frações que foram agrupadas em 7 subfrações (1 – 7). A subfração SCA-XII-2 (32,4 mg) continha as substâncias **S19** + **S20**. A subfração SCA-XII-3 (15,3 mg) foi purificada por CCDP (alumina) em hexano:acetato de etila/9:1, resultando na mistura **S19** + **S20**. (10,8 mg).

O grupo SCA-XIII (56,2 mg) foi submetido à CCDP em hexano:acetona/95:5 resultando no isolamento de **S19** + **S20** (5,0 mg). O grupo SCA-XIV (30,2 mg) foi submetido à CCDP em diclorometano, resultando em **S8** (1,8 mg). O grupo SCA-XVIII (289,0 mg) foi submetido à CC eluída com gradiente de diclorometano em hexano 6:4 (550 mL), 1:1 (60 mL), 4:6 (150 mL), 3:7 (50 mL), diclorometano (150 mL) e depois gradientes de acetona em diclorometano 9:1 (50 mL), 7:3 (50 mL), 1:1 (100 mL), posteriormente acetona (20 mL) e metanol (50 mL) puros. Este procedimento rendeu 96 frações que foram agrupadas em 23 subfrações (1 – 23). A subfração SCA-XVIII-11 (7,5 mg) foi submetida à CCDP em diclorometano, resultando em **S2** (3,8 mg), **S3** (1,0 mg) e **S7** (1,0 mg). A subfração SCA-XVIII-14 (32,2 mg) foi submetida à CC eluída em hexano:diclorometano/1:1 (140 mL), diclorometano (30 mL), gradientes de acetona em diclorometano/99:1 (30 mL), 95:5 (20 mL), 1:1 (20 mL) e acetona pura (50 mL), resultando em 41 frações agrupadas em 5 grupos (I - V). Do grupo SCA-XVIII-14-II (9,8 mg) foram isoladas **S2** (3,2 mg) e **S7** (0,8 mg) depois de purificação por CCDP em diclorometano. O grupo SCA-XVIII-14-III (15,5 mg) foi submetido à CCDP em hexano:diclorometano:metanol/2:2:0,2, resultando no isolamento de **S1** (3,1 mg). A subfração SCA-XVIII-18 (42,0 mg) foi submetida à CCDP em diclorometano:acetona/9:1, resultando na obtenção de **S24**

(2,7 mg) e dos esteróides β -sitosterol e estigmasterol (9,3 mg) (Tabela 15; página 78, Esquema 08; página 79).

TABELA 15. FRACIONAMENTO DA FRAÇÃO SCA COM AS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS.

Grupo	Frações	Massa (mg)	Solvente (v/v)	Substâncias isoladas / identificadas (mg)
SCA-I	00-02	229,2	Pentano	Óleo volátil
SCA-II	03-07	5,3	Pentano	-
SCA-III	08-14	12,4	Pentano	-
SCA-IV	15	31,2	Pentano:CH ₂ Cl ₂ /2:1	-
SCA-V	16-18	131,6	Pentano:CH ₂ Cl ₂ /2:1	-
SCA-VI	19-22	13,3	Pentano:CH ₂ Cl ₂ /2:1	-
SCA-VII	23-24	6,0	Pentano:CH ₂ Cl ₂ /1:1	-
SCA-VIII	25-27	9,0	Pentano:CH ₂ Cl ₂ /1:1	-
SCA-IX	28-31	14,7	Pentano:CH ₂ Cl ₂ /1:1	S10
SCA-X	32-34	64,7	Pentano:CH ₂ Cl ₂ /1:1	-
SCA-XI	35-40	80,9	CH ₂ Cl ₂	-
SCA-XII	41-44	128,5	CH ₂ Cl ₂	S19 + S20 (10,8)
SCA-XIII	45-51	56,2	CH ₂ Cl ₂	S19 + S20 (5,0)
SCA-XIV	52-56	30,2	CH ₂ Cl ₂	S8 (1,8)
SCA-XV	57	12,9	CH ₂ Cl ₂ :MeOH/95:5	-
SCA-XVI	58-68	45,9	CH ₂ Cl ₂ :MeOH/95:5	-
SCA-XVII	69	6,6	CH ₂ Cl ₂ :MeOH/95:5	-
SCA-XVIII	70-76	289,0	CH ₂ Cl ₂ :MeOH/9:1	S1 (3,1), S2 (7,0), S3 (1,0), S7 (1,8), S24 (2,7) e β -sitosterol + estigmasterol
SCA-XIX	77	14,3	CH ₂ Cl ₂ :MeOH/1:1	-



ESQUEMA 08. Fracionamento dos tubérculos de *S. canescens* e da fração em hexano (SCA).

A fração em CH_2Cl_2 (SCB, 1,8 g) foi submetida à coluna em diclorometano (900 mL), diclorometano:metanol/95:5 (300 mL), 9:1 (600 mL), 8:2 (100 mL), 7:3 (350 mL), 6:4 (200 mL), 1:1 (260 mL) e metanol puro (500 mL), rendendo 112

frações, agrupadas em 25 grupos (I - XXV) (Tabela 16; páginas 81-82; Esquema 09; página 83).

Parte do grupo SCB-V (121,2 mg) foi purificado por CCDP em hexano:éter etílico/2:1, resultando em **S19 + S20** (20,0 mg). Os grupos SCB-VI (59,6 mg) e SCB-VII (81,0 mg) foram identificados como contendo a mistura de **S19 + S20**. O grupo SCB-VIII (35,6 mg) foi purificado por CCDP em hexano:éter etílico/2:1 resultando em **S2** (13,2 mg), **S3** (2,2 mg), **S7** (0,3 mg), **S8** (3,4 mg) e **S19 + S20** (2,7 mg).

O grupo SCB-IX (50,8 mg) foi submetido à CCDP resultando em **S2** (40,9 mg), SCB-IX-A (4,8 mg), SCB-IX-B (4,5 mg) e SCB-IX-C (2,9 mg). SCB-IX-A, SCB-IX-B e SCB-IX-C foram purificadas por CLAE (H₂O:ACN/2:8, isocrático, fluxo 1,0 mL min⁻¹, 7 min.) dando **S28** (1,0 mg; 3,24 min.), **S29** (2,0 mg; 3,39 min.); **S11** (1,0 mg; 4,26 min.), **S7** (2,0 mg; 4,42 min), **S3** (2,3 mg; 4,66 min), **S4** (0,5 mg; 4,90 min.) e **S8** (0,5 mg; 5,23 min.). No grupo SCB-X (9,7 mg) foi identificado a presença da substância **S2** impura (Tabela 16; páginas 81-82, Esquema 09; página 83).

O grupo SCB-XI (17,2 mg) foi purificado por CCDP em diclorometano, resultando no isolamento das substâncias **S1** (5,8 mg), **S2** (8,0 mg) e **S7** (1,1 mg). O grupo SCB-XIV (225,4 mg) foi submetido à CC eluída em diclorometano (370 mL), diclorometano:metanol/99:1 (100 mL), 97:3 (85 mL), 9:1 (50 mL), 8:2 (50 mL) e metanol (50 mL) resultando em 74 frações, agrupadas em 11 subgrupos (1 – 11). O subgrupo SCB-XIV-3 (23,8 mg) foi purificado por CCDP em diclorometano:metanol/99:1, resultando no isolamento de **S1** (10,5 mg) e **S6** (4,2 mg). Da mesma forma, do subgrupo SCB-XIV-4 (52,2 mg) foi isolada a substância **S6** (4,1 mg) após purificação por CCDP em diclorometano:metanol/95:5, além de uma outra fração que foi novamente purificada por CCDP em diclorometano:acetona/9:1, resultando na substância **S23** (1,5 mg). O subgrupo SCB-XIV-6 (21,8 mg) foi submetido à CCDP em diclorometano:metanol/95:5, resultando no isolamento de **S24** (4,3 mg). Do subgrupo SCB-XIV-7 (37,9 mg) também foi isolada **S24** (3,3 mg) após purificação por CCDP em diclorometano:metanol/95:5 e **S9** (2,4 mg).

O grupo SCB-XV (66,7 mg) foi purificado por CCDP em diclorometano:metanol/95:5, resultando novamente no isolamento da substância **S24** (27,9 mg). O grupo SCB-XXII (295,0 mg) foi submetido à CC eluída com diclorometano:acetato de etila:metanol:água/3:8:1:0,25 (100 mL), acetato de etila:metanol:água/8:1:0,25 (100 mL) e por último metanol (30 mL) resultando em 30

frações que foram agrupadas em 8 subfrações (1 – 8). A subfração SCB-XXII-1 (3,9 mg) continha **S28**. A subfração SCB-XXII-3 (77,4 mg) foi purificada por CCDP em diclorometano:acetato de etila:metanol:água/3:8:1:0,25, resultando no isolamento de **S31** (15,8 mg). A subfração SCB-XXII-4 (77,8 mg) foi purificada por CCDP em diclorometano:acetato de etila:metanol:água/3:8:1:0,25 rendendo **S31** (2,4 mg) e **S34** (13,3 mg). A subfração SCB-XXII-5 (53,4 mg) foi submetida à CCDP em diclorometano:acetato de etila:metanol:água/3:8:1:0,25, resultando no isolamento de **S34 + S35** (37,7 mg).

O grupo SCB-XXIV (68,3 mg) foi purificado por CCDP em acetato de etila:metanol:água/8:1:0,25 resultando no isolamento de **S32 + S33** (5,1 mg) (Tabela 16; páginas 81-82, Esquema 10; página 84).

TABELA 16. FRACIONAMENTO DA FRAÇÃO SCB COM AS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS.

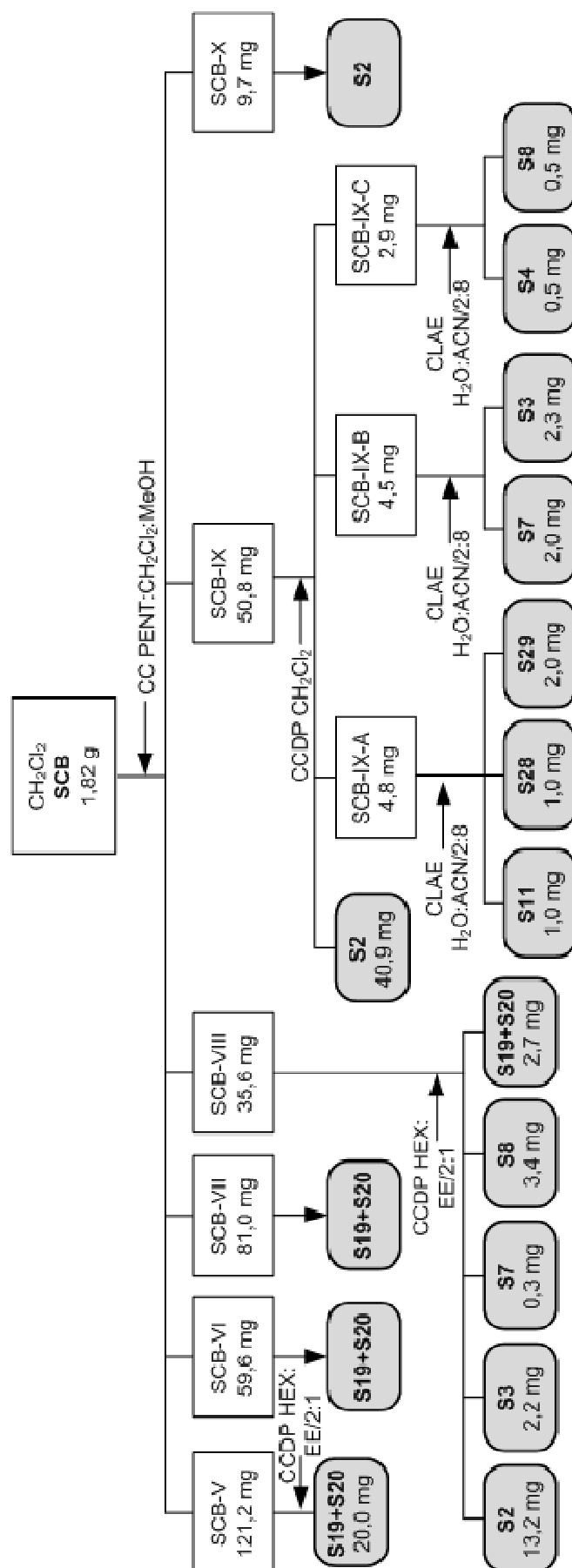
Grupo	Frações	Massa (mg)	Solvente (v/v)	Substâncias isoladas / identificadas (mg)
SCB-I	01-03	2,5	Hexano	-
SCB-II	04	0,5	CH ₂ Cl ₂	-
SCB-III	05-06	1,2	CH ₂ Cl ₂	-
SCB-IV	07	1,5	CH ₂ Cl ₂	-
SCB-V	08-13	121,2	CH ₂ Cl ₂	S19 + S20 (20,0)
SCB-VI	14-15	59,6	CH ₂ Cl ₂	S19 + S20
SCB-VII	16-20	81,0	CH ₂ Cl ₂	S19 + S20
SCB-VIII	21-24	35,6	CH ₂ Cl ₂	S2 (13,2), S3 (2,2), S7 (0,3), S8 (3,4), S19 + S20 (2,7)
SCB-IX	25-30	50,8	CH ₂ Cl ₂	S2 (40,9), S3 (2,3), S4 (0,5), S7 (2,0), S8 (0,5), S11 (1,0), S28 (1,0), S29 (2,0)
SCB-X	31-33	9,7	CH ₂ Cl ₂	S2
SCB-XI	34-42	17,2	CH ₂ Cl ₂ :MeOH/95:5	S1 (5,8), S2 (8,0), S7 (1,1)
SCB-XII	43-44	0,4	CH ₂ Cl ₂ :MeOH/95:5	-
SCB-XIII	45-48	1,4	CH ₂ Cl ₂ :MeOH/95:5	-
SCB-XIV	49-52	225,4	CH ₂ Cl ₂ :MeOH/95:5	S1 (10,5), S6 (8,3), S9 (2,4), S23 (1,5), S24 (7,6)
SCB-XV	53-54	66,7	CH ₂ Cl ₂ :MeOH/95:5	S24 (27,9)
SCB-XVI	55-57	39,8	CH ₂ Cl ₂ :MeOH/9:1	-

continua

TABELA 16. FRACIONAMENTO DA FRAÇÃO SCB COM AS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS.

conclusão				
Grupo	Frações	Massa (mg)	Solvente (v/v)	Substâncias isoladas / identificadas (mg)
SCB-XVII	58-61	52,2	CH ₂ Cl ₂ :MeOH/9:1	-
SCB-XVIII	62	14,0	CH ₂ Cl ₂ :MeOH/9:1	-
SCB-XIX	63-66	95,7	CH ₂ Cl ₂ :MeOH/9:1	-
SCB-XX	67-69	41,0	CH ₂ Cl ₂ :MeOH/9:1	-
SCB-XXI	70-75	121,3	CH ₂ Cl ₂ :MeOH/9:1	-
SCB-XXII	76-89	295,0	CH ₂ Cl ₂ :MeOH/8:2	S28(3,9), S31(18,2), S32(13,3), S34 + S35 (37,7)
SCB-XXIII	90-94	180,9	CH ₂ Cl ₂ :MeOH/7:3	-
SCB-XXIV	95-101	68,3	CH ₂ Cl ₂ :MeOH/6:4	S32 + S33 (5,1)
SCB-XXV	102-112	80,1	CH ₂ Cl ₂ :MeOH/1:1, MeOH	-

As amostras **S1**, **S2** e **S9** foram purificadas por CLAE utilizando o método isocrático H₂O:ACN/20:80 com fluxo de 1,0 mL min⁻¹.



ESQUEMA 09. Fracionamento das primeiras frações de SCB do extrato etanólico de *S. canescens*.

3.5. ANÁLISE COMPARATIVA DOS EXTRATOS

Foram realizadas análises por CLAE-DAD e RMN de ^1H dos extratos de *Sinningia canescens* e *S. leucotricha*. Algumas substâncias isoladas foram utilizadas como padrões na técnica de CLAE. Para a análise cromatográfica, as amostras foram preparadas em metanol na concentração de $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$, injetando $10 \mu\text{L}$. O método utilizado foi o gradiente exploratório de metanol, no qual no início há uma maior quantidade de H_2O (95%), com o passar do tempo esta quantidade vai diminuindo gradativamente até a completa troca de H_2O por metanol em 60 minutos, mantendo metanol por mais 20 minutos, empregando fluxo de $0,8 \text{ mL min}^{-1}$ (Tabela 17; página 85).

TABELA 17. MÉTODO DO GRADIENTE EXPLORATÓRIO DE METANOL.

Tempo (minutos)	Fluxo (mL min^{-1})	H_2O (% v/v)	Metanol (% v/v)
0	0,8	95	5
60	0,8	0	100
80	0,8	0	100

Foram realizadas análises de todos os extratos dos tubérculos de *S. canescens* e dos tubérculos e folhas de *S. leucotricha*.

Para as análises de RMN, as amostras (extratos de *S. canescens* e os extratos da última coleta de *S. leucotricha*), foram preparadas em metanol ou clorofórmio deuterados, utilizando em média 5 mg de amostra, obtendo o espectro em uma variação de deslocamento químico de 15 ppm e adquirindo os espectros por 16 vezes.

3.6. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA

Para a avaliação da atividade citotóxica foram utilizados os extratos obtidos como descrito anteriormente, SCA, SCB, SCC, SCD, SCE, SCET (de *S. canescens*), SLET1, SLET2, SLET3, SLET (de *S. leucotricha*), além das substâncias puras isoladas **S1**, **S14**, **S16**, **S25**, **S26** e **S31**. As linhagens de células tumorais humanas testadas foram: U251 (glioma, SNC), UACC-62 (melanoma), MCF-7 (mama), NCI-ADR/RES (ovário resistente a múltiplos fármacos), 786-0 (rim), NCI-H460 (pulmão, tipo não pequenas células), PC-3 (próstata), HT-29 (cólon), OVCAR-3 (ovário), K562 (leucemia), VERO (rim, célula normal) e HaCat (queratinócito humano, célula normal). O ensaio foi realizado de acordo com o procedimento descrito anteriormente (SKEHAN *et al.*, 1990). As linhagens de células tipo ATCC (American Type Culture Collection) foram distribuídas em pratos de 96 poços (100 μL célula poço⁻¹). As placas foram incubadas em estufa por 24 horas a 37 °C, com 5 % de CO₂. As amostras foram diluídas em DMSO (dimetilsulfóxido) (a concentração final de DMSO não afeta a viabilidade celular), e quatro diferentes concentrações (0,25; 2,5; 25,0 e 250,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$) dos extratos, frações e substâncias isoladas em quantidade foram adicionadas às células. Após 48 horas, uma solução de ácido tricloroacético 50 % foi adicionada e depois de incubação de 30 minutos a 4 °C, as células foram lavadas e secadas.

A proliferação das células foi determinada pela quantificação espectrofotométrica (540 nm) do teor de proteína celular usando sulforrodamina B (Figura 226; página 260), que é um corante que se liga aos aminoácidos básicos das proteínas, dando uma resposta linear da densidade celular. Os experimentos foram feitos em triplicata, e os dados analisados usando ANOVA, e o teste F foi usado para determinar qualquer diferença entre os grupos. Doxorrubicina (Figura 226; página 260) foi usada como controle positivo e o solvente DMSO, como controle negativo. Os resultados foram expressos em TGI que é a concentração necessária para inibir totalmente o crescimento das células. Estes testes foram realizados no CPQBA (Unicamp) pelos Drs. João Ernesto de Carvalho e Marcos José Salvador.

3.7. DADOS FÍSICOS E ESPECTROMÉTRICOS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS

S1

7-hidroxi- α -dunniona: sólido cristalino alaranjado; EMAR: m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{15}H_{15}O_4$: 259,0970, encontrado: 259,0983; $[\alpha]_D^{25} = -22,28$ ($c=0,175$ g 100 mL^{-1} , $CHCl_3$); UV λ_{max} (MeOH) ($\log \epsilon$): 228 (3,7), 264 (3,8), 301 (3,4) nm; DC ($c=0,003$ g 100 mL^{-1} , MeOH) λ_{max} (Θ): 202 (+30,1); 267 (-8,6); 305 (-10,4); 396 (+5,1); CLAE: $t_R=$ 51,9 minutos (gradiente exploratório MeOH); RMN de 1H , HSQC, HMBC: Figuras 16-18 (páginas 97-99), Tabela 19 (página 97); (CAI *et al.*, 2005).

S2

6-metoxi-7-hidroxi- α -dunniona: sólido cristalino alaranjado, EMAR: m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{16}H_{17}O_5$: 289,1076, encontrado: 289,1076; $[\alpha]_D^{25} = -86,95$ ($c=0,115$ g 100 mL^{-1} , $CHCl_3$); UV λ_{max} (MeOH) ($\log \epsilon$): 224 (4,0); 273 (4,2); 324 (3,9) nm; DC ($c=0,002$ g 100 mL^{-1} , MeOH) λ_{max} (Θ): 205 (+9,7); 326 (-11,1); 394 (+4,6); 441 (-1,0); CLAE: $t_R=$ 54,1 minutos (gradiente exploratório MeOH); RMN de 1H , de ^{13}C , HSQC, HMBC: Figuras 21-24 (páginas 100-102), Tabelas 20-21 (páginas 116-117).

S3

7,8-dimetoxi- α -dunniona: sólido cristalino amarelo; EMAR: m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{17}H_{19}O_5$: 303,1233, encontrado: 303,1233; $[\alpha]_D^{25} = -26,67$ ($c=0,075$ g 100 mL^{-1} , $CHCl_3$); UV λ_{max} (MeOH) ($\log \epsilon$): 231 (3,7); 259 (3,7); 294 (3,4) nm; DC ($c=0,013$ g 100 mL^{-1} , MeOH) λ_{max} (Θ): 203 (+7,3); 280 (+1,8); CLAE: $t_R=$ 55,1 minutos (gradiente exploratório MeOH); RMN de 1H , HSQC, HMBC: Figuras 27-29 (páginas 104-105), Tabelas 20-21 (páginas 116-117).

S4

7-metoxi-8-hidroxi- α -dunniona: sólido cristalino alaranjado; EMAR: m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{16}H_{17}O_5$: 289,1076, encontrado: 289,1072; $[\alpha]_D^{25} = -38,8$ ($c=0,026$ g 100 mL^{-1} , $CHCl_3$); UV λ_{max} (MeOH) ($\log \epsilon$): 263 (2,5), 305 (2,2) nm; DC ($c=0,0033$ g 100 mL^{-1} , MeOH) λ_{max} (Θ): 215 (+0,7); 258 (-0,3); 277 (-0,1); 306 (-0,5); CLAE: $t_R=$

4,91 minutos (H₂O:ACN/20:80); RMN de ¹H, HSQC, HMBC: Figuras 32-35 (páginas 107-108), Tabelas 20-21 (páginas 116-117).

S5

6,7-dimetoxi- α -dunniona: sólido amorfo alaranjado; massa molecular calculada (C₁₇H₁₈O₅) 302,3262; RMN de ¹H, HSQC, HMBC: Figuras 38-40 (páginas 110-111), Tabelas 20-21 (páginas 116-117).

S6

7,8-dimetoxidunniona: sólido cristalino vermelho; EMAR: m/z [M+H]⁺ calculado para C₁₇H₁₉O₅: 303,1233, encontrado: 303,1232; $[\alpha]_D^{25} = -50,32$ (c=0,155 g 100 mL⁻¹, CHCl₃); UV λ_{\max} (MeOH) (log ϵ): 226 (4,0); 271 (4,1); 345 (3,4) nm; DC (c=0,0066 g 100 mL⁻¹, MeOH) λ_{\max} (Θ): 201 (+16,6); 263 (-0,2); 281 (+1,8); 331 (-0,9); 388 (+1,0); 472 (-0,6); CLAE: $t_R = 53,4$ minutos (gradiente exploratório MeOH); RMN de ¹H, de ¹³C, HSQC, HMBC, NOE: Figuras 42-46 (páginas 113-115), Tabelas 20-21 (páginas 116-117).

S7

7,8-dimetoxicanescenona: sólido cristalino amarelo; EMAR: m/z [M+H]⁺ calculado para C₁₇H₁₉O₅: 303,1233, encontrado: 303,1224; $[\alpha]_D^{25} = -29,2$ (c=0,013 g 100 mL⁻¹, CHCl₃); UV λ_{\max} (MeOH) (log ϵ): 203 (3,5), 288 (2,7) nm; DC (c=0,013 g 100 mL⁻¹, MeOH) λ_{\max} (Θ): 206 (+2,1); 217 (+0,1); 238 (+1,5); CLAE: $t_R = 4,42$ minutos (H₂O:ACN/20:80); RMN de ¹H, HSQC, HMBC: Figuras 49-51 (páginas 119-120), Tabela 22 (página 124).

S8

7,8-dimetoxidunniol: sólido cristalino vermelho; EMAR: m/z [M+H]⁺ calculado para C₁₇H₁₉O₅: 303,1232, encontrado: 303,1226; UV λ_{\max} (MeOH) (log ϵ): 266 (2,9), 302 (2,7) nm; CLAE: $t_R = 5,23$ minutos (H₂O:ACN/20:80); RMN de ¹H, HSQC, HMBC: Figuras 54-56 (páginas 122-123), Tabela 22 (página 124).

S9

1-hidroxi-1-metilenocarboxi-7,8-dimetoxi- α -dunniona: sólido cristalino alaranjado; EM: m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{19}H_{23}O_7$: 363,14, encontrado: 363,13; $[\alpha]_D^{25} = -20,0$ ($c=0,02$ g 100 mL⁻¹, $CHCl_3$); DC ($c=0,0066$ g 100 mL⁻¹, MeOH) λ_{max} (Θ): 200 (+3,8); CLAE: $t_R = 4,20$ minutos ($H_2O:ACN/20:80$); RMN de 1H , HSQC, HMBC: Figuras 59-61 (páginas 126-127), Tabela 23 (página 128).

S10

Tectoquinona: sólido cristalino amarelo; massa molecular calculada ($C_{15}H_{10}O_2$): 222,2341; RMN de 1H , HSQC, HMBC: Figuras 64-66 (páginas 130-131), Tabela 24 (página 131) (MOREIRA *et al.*, 2006).

S11

2(4'-hidroxifenil)-5-hidroxi-7-metoxi-3-benzofuranal: sólido amorfo amarelo; EM: m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{16}H_{13}O_5$: 285,0763, encontrado: 285,0759; UV λ_{max} (MeOH) ($\log \epsilon$): 270 (3,3), 386 (2,9) nm; CLAE: $TR = 4,09$ minutos ($H_2O:ACN/20:80$); RMN de 1H , HSQC, HMBC: Figuras 68-70 (páginas 133-134), Tabela 25 (página 138).

S12

2(4'-metoxifenil)-5-hidroxi-7-metoxi-3-benzofuranal: sólido amorfo amarelo; EM: m/z $[M+Li]^+$ calculado para $C_{17}H_{14}O_5Li$: 305,100128, encontrado: 305,1022; UV λ_{max} (MeOH) ($\log \epsilon$): 270,5 (2,7), 362 (2,3) nm; RMN de 1H , HSQC, HMBC: Figuras 73-75 (páginas 136-137), Tabela 25 (página 138).

S13

Presilphiperfolan-9-ol: sólido amorfo incolor; massa molecular calculada ($C_{15}H_{26}O$) 222,3698; $[\alpha]_D^{25} = -0,76$ ($c=0,287$ g 100 mL⁻¹, $CHCl_3$); DC ($c=0,038$ g 100 mL⁻¹, MeOH) λ_{max} (Θ): 202 (+7,5); 204 (-19,8); 211 (+27,7); 243 (+8,9); CG: IR ($t_R = 33,552$) = 1.516 (Figura 115, página 171); RMN de 1H , de ^{13}C , HSQC, HMBC: Figuras 78-81 (páginas 141-142), Tabela 26 (página 143) (ALBERTO MARCO *et al.*, 1996).

S14

Ácido leucotrichóico: sólido amorfo incolor; EM: m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{15}H_{23}O_2$: 235,1698, encontrado: 235,1694; $[\alpha]_D^{25} = -211,2$ ($c=0,025$ g 100 mL⁻¹, $CHCl_3$); UV λ_{max} (MeOH) ($\log \epsilon$): 225 (3,7) nm; DC ($c=0,011$ g 100 mL⁻¹, MeOH) $\lambda_{max}(\Theta)$: 219 (-25,8); 251 (+5,6); 298 (+0,2); 325 (+3,3); RMN de 1H , de ^{13}C , HSQC, HMBC, NOE: Figuras 85-90 (páginas 146-149), Tabela 27 (página 153).

S15

Leucotrichol: sólido amorfo incolor; EM: m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{15}H_{25}O$: 221,1905, encontrado: 221,1391; $[\alpha]_D^{25} = -69,5$ ($c=0,04$ g 100 mL⁻¹, $CHCl_3$); UV λ_{max} (MeOH) ($\log \epsilon$): 223 (2,9); 287 (2,2) nm; DC ($c=0,026$ g 100 mL⁻¹, MeOH) $\lambda_{max}(\Theta)$: 200 (-9,3); 214 (+12,4); CG: IR ($t_R=37,694$) = 1.623 (Figura 115, página 171); RMN de 1H , HSQC, HMBC: Figuras 93-95 (páginas 151-152), Tabela 27 (página 153).

S16

11-*epi*-subergorgiol: sólido amorfo incolor; EMAR: m/z $[M+H]^+$ calculado para $C_{15}H_{25}O$: 221,1905, encontrado: 221,1900; $[\alpha]_D^{25} = -227,5$ ($c=0,04$ g 100 mL⁻¹, $CHCl_3$); UV λ_{max} (MeOH) ($\log \epsilon$): 230 (3,6) nm; DC ($c=0,023$ g 100 mL⁻¹, MeOH) $\lambda_{max}(\Theta)$: 201 (+8,6); 202 (+8,1); 204 (-9,8); 206 (+8,1); 207 (-1,7); 209 (+13,7); 213 (+15,8); CG: IR ($t_R = 37,047$) = 1.606 (Figura 115, página 171); RMN de 1H , de ^{13}C , HSQC, HMBC, NOE: Figuras 98-103 (páginas 155-158), Tabela 28 (página 159).

S17 + S18

Leucotrichanal + 11-*epi*-silphiperfolenal: sólido amorfo incolor; massa molecular calculada ($C_{15}H_{22}O$) 218,3382 (para cada um); CG: IR = 1645 (co-eluíram) (Figura 117, página 173); RMN de 1H , HSQC, HMBC: Figuras 106-108 (páginas 161-162), Tabela 29 (página 163).

S19 + S20

Cedrol + 2,6,7-tri-*epi*-cedrol: sólido cristalino branco; massa molecular calculada ($C_{15}H_{26}O$) 222,3698 (para cada um); CG: IR ($t_R = 35,659$) = 1582 e IR ($t_R = 36,139$) = 1594 (Figura 117, página 173); RMN de 1H , de ^{13}C , HSQC, HMBC: Figuras 110-113 (páginas 165-167), Tabela 30 (página 168) (BROWN *et al.*, 2003).

S21 + S22

Hederagenina + Ácido 23-hidroxiursólico: sólido amorfo amarelado; massa molecular calculada ($C_{30}H_{48}O_4$) 473,3355 (para cada um); RMN de 1H , de ^{13}C , HSQC, HMBC: Figuras 119-122 (páginas 176-177), Tabela 31 (página 178) (SOUSA *et al.*, 1984; FURUYA *et al.*, 1987).

S23

Ácido betulínico: sólido amorfo incolor; massa molecular calculada ($C_{30}H_{48}O_3$) 456,7074; RMN de 1H , HSQC, HMBC: Figuras 124-126 (páginas 180-181), Tabela 32 (página 182) (KENNEDY, 2012).

S24

Halleridona: óleo avermelhado, massa molecular calculada ($C_8H_{10}O_3$) 154,6299; $[\alpha]_D^{25} = 0,00$ ($c=0,05$ g 100 mL $^{-1}$, $CHCl_3$); CLAE: $t_R = 11,1$ minutos (gradiente exploratório MeOH); RMN de 1H , de ^{13}C , DEPT-135, HSQC, HMBC, NOE: Figuras 128-133 (páginas 185-188), Tabela 33 (página 196) (MESSANA *et al.*, 1984).

S25

Cleroindicina-B: óleo amarelo, massa molecular calculada ($C_8H_{14}O_3$) 158,1968; CLAE: $t_R = 7,9$ minutos (gradiente exploratório MeOH); RMN de 1H , de ^{13}C , HSQC, HMBC: Figuras 136-139 (páginas 190-191), Tabela 33 (página 196) (TIAN *et al.*, 1997).

S26

Cleroindicina-C: óleo amarelo, massa molecular calculada ($C_8H_{12}O_3$) 156,181; CLAE: $t_R = 10,4$ minutos (gradiente exploratório MeOH); RMN de 1H , de ^{13}C , DEPT-135, HSQC, HMBC: Figuras 142-145 (páginas 193-195), Tabela 33 (página 196) (TIAN *et al.*, 1997).

S27

Cornosídeo: sólido amorfo amarelado, massa molecular calculada ($C_{14}H_{20}O_8$) 316,3072; RMN de 1H , de ^{13}C , DEPT-135, HSQC, HMBC: Figuras 148-151 (páginas 198-200), Tabela 34 (página 200) (SASAKI *et al.*, 1978).

S28

p-hidroxi-benzoato de metila: sólido amorfo amarelo, EM: m/z $[M-H]^-$ calculado para $C_8H_7O_3$: 151,1415, encontrado: 151,02 (Figura 160, página 207); CLAE: t_R = 3,27 minutos ($H_2O:ACN/20:80$); RMN de 1H , HSQC, HMBC: Figuras 153-155 (páginas 203-204), Tabela 35 (página 202) (LI *et al.*, 2003; KANNATHASAN *et al.*, 2011).

S29

p-hidroxi-benzoato de etila: sólido amorfo amarelo, EM: m/z $[M-H]^-$ calculado para $C_9H_9O_3$: 165,1683, encontrado: 165,12 (Figura 163, página 208); CLAE: t_R = 3,45 minutos ($H_2O:ACN/20:80$); RMN de 1H , HSQC, HMBC: Figuras 156-158 (páginas 204-205), Tabela 35 (página 202) (LI *et al.*, 2003; SCOTT, 1972).

S30

etil- β -D-glucopiranosídeo: sólido amorfo avermelhado; massa molecular calculada ($C_8H_{16}O_6$) 208,2108; RMN de 1H , de ^{13}C , HSQC, HMBC: Figuras 166-169 (páginas 210-211), Tabela 36 (página 209) (TIITINEN *et al.*, 2006).

S31

Calceolariosídeo B: sólido amorfo avermelhado, massa molecular calculada ($C_{23}H_{26}O_{11}$) 478,4518; CLAE: t_R = 38,03 minutos (gradiente exploratório MeOH); RMN de 1H , de ^{13}C , HSQC, HMBC: Figuras 171-176 (páginas 214-216), Tabela 37 (página 221) (DAMTOFT; JENSEN, 1994).

S32 + S33

Calceolariosídeo A + Plantainosídeo A: sólido amorfo avermelhado; massa molecular calculada ($C_{23}H_{26}O_{11}$) 478,4518 (para cada uma); RMN de 1H , HSQC, HMBC: Figuras 178-180 (páginas 218-219), Tabela 37 (página 221) (DAMTOFT; JENSEN, 1994).

S34

Conandrosídeo: sólido amorfo avermelhado; EM: m/z $[M-H]^-$ calculado para $C_{28}H_{34}O_{15}$: 609,5597, encontrado: 609,19; RMN de 1H , de ^{13}C , HSQC, HMBC: Figuras 182-185 (páginas 223-225), Tabela 38 (página 229) (JENSEN, 1996).

S35

Isoverbascosídeo: sólido amorfo avermelhado; EM: m/z $[M-H]^-$ calculado para $C_{29}H_{36}O_{15}$: 623,5865, encontrado: 623,19; RMN de 1H , HSQC, HMBC: Figuras 187-189 (páginas 227-228), Tabela 38 (página 229) (MIYASE *et al.*, 1982).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fracionamento cromatográfico dos extratos menos polares dos tubérculos de *Sinningia leucotricha* e *S. canescens* resultou, na separação de um óleo volátil e, no isolamento e identificação de 35 substâncias não voláteis, sendo que destas, 16 são inéditas (Tabela 18; página 94).

TABELA 18. SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE *Sinningia canescens* (SC) E *S. leucotricha* (SL) COM SUAS RESPECTIVAS MASSAS.

Substância	Espécie	Massa (mg)	Substância	Espécie	Massa (mg)
S1	SC e SL	56,2	S17 + S18	SL	1,3
S2	SC e SL	106,7	S19 + S20	SC	208,8
S3	SC e SL	9,0	S21 + S22	SL	5,2
S4	SC	0,5	S23	SC	1,5 (+S1=5,2) (+S1=5,9)
S5	SL	1,0	S24	SL e SC	55,6
S6	SC e SL	13,0	S25	SL	7,1
S7	SC	5,2	S26	SL	5,4
S8	SC	7,5	S27	SL	5,5
S9	SC	2,4	S28	SC	4,9
S10	SC	14,7	S29	SC	2,0
S11	SC	1,0	S30	SL	37,6
S12	SL	3,9	S31	SC e SL	72,5
S13	SL	8,5	S32 + S33	SL	15,3
S14	SL	7,4	S34	SC	13,3
S15	SL	5,2 (+S16=31,3)	S34 + S35	SC	37,7
S16	SL	18,1 (+S15=31,3)			

4.1. NAFTOQUINONAS - IDENTIFICAÇÃO DE **S1** E DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE **S2**, **S3**, **S4**, **S5**, **S6**

As substâncias **S1**, **S2**, **S3**, **S4**, **S5** e **S6** apresentaram dados espectrais semelhantes. Os seus espectros de RMN de ^1H mostraram sinais de hidrogênios na região de hidrogênios aromáticos, e de um anel 2,3-diidro-2,3,3-trimetilfurano, caracterizado por um quarteto em torno de δ 4,5 (H-1'), um duplete em δ 1,4 (H-3') e dois simpletos em δ 1,2 (H-5') e 1,4 (H-4'). No espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ foram observados além de picos na região de carbonos aromáticos, dois sinais de grupos carbonila entre δ 175 e 182, além dos sinais do anel 2,3-diidro-2,3,3-trimetilfurano em δ 91 (OCH - C-1'), δ 45 (C - C-2') e δ 14-26 (3 picos, CH_3 - C-3', C-4' e C-5'). De acordo com estas informações, foi possível determinar que estas seis substâncias pertencem à classe das naftoquinonas, do tipo dunniona ou α -dunniona. A diferença entre elas está na substituição do anel aromático (OH e/ou OCH_3) e na posição dos grupos carbonila, que pode ser 1,2 (dunniona) ou 1,4 (α -dunniona) (INOUE *et al.*, 1982). Todas as naftoquinonas foram isoladas como sólidos de cores amarelo, alaranjado ou vermelho. A estereoquímica absoluta de **S1**, **S2**, **S3**, **S4**, **S5** e **S6** foi atribuída como 1'S, uma vez que as substâncias são levorotatórias, usando como base o estudo realizado por Cooke e colaboradores para a α -dunniona e dunniona (COOKE *et al.*, 2006).

A substância **S1** apresentou no seu espectro de RMN de ^1H (Figura 16 - página 97) três hidrogênios na região de hidrogênios aromáticos (δ 7,09 a 7,99) com constantes de acoplamento características de anel aromático 1,3,4-trissubstituído. Como não há nenhum sinal adicional no espectro de RMN de ^1H pode-se supor que há um grupo hidroxila no anel aromático. Este grupo pode não ser observado nos espectros de RMN de ^1H realizados em CDCl_3 , pois o hidrogênio da hidroxila troca com o deutério do solvente, devido a presença de contaminantes ácidos que catalisam essa troca, causando alargamento e redução da altura do pico (LAMBERT; MAZZOLA, 2004).

O mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (Figura 17; página 98) mostrou que o hidrogênio em δ 7,11 (H-6) está ligado ao carbono em δ 120,5 (C-6), o hidrogênio em δ 7,45 (H-8) está ligado ao carbono em δ 112,5 (C-8), o hidrogênio em δ 7,96 (H-5)

está ligado ao carbono em δ 128,6 (H-5) e o hidrogênio em δ 4,57 (H-1') está ligado ao carbono em δ 91,5 (C-1'). Além disto, este experimento mostrou que os hidrogênios em δ 1,28 (H-5') estão ligados ao carbono em δ 20,6 (C-5'), os hidrogênios em δ 1,44 (H-3') estão ligados ao carbono em δ 14,0 (C-3') e os hidrogênios em δ 1,48 (H-4') estão ligados ao carbono em δ 25,6 (C-4'). O mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (Figura 18; página 98) mostrou que o hidrogênio em δ 7,45 (H-8) apresentou correlação forte com os carbonos em δ 120,5 (C-6), 126,7 (C-10) e 178,6 (C-1), e o hidrogênio em δ 7,96 (H-5) apresentou correlação forte com os carbonos em δ 133,4 (C-9), 160,1 (C-7) e 181,9 (C-4). Além disso, o hidrogênio em δ 4,57 (H-1') possui correlação com os carbonos em δ 20,6 (C-5') e 25,6 (C-4'), os hidrogênios em δ 1,48 (H-4') possuem correlação com os carbonos em δ 20,6 (C-5'), 45,2 (C-2'), 91,5 (C-1') e 130,7 (C-3), além de outras correlações observadas (Tabela 19; página 97).

O grupo carbonila da posição 1 das α -dunnionas está mais protegido que o grupo carbonila na posição 4 (INOUE *et al.*, 1982), por isso o hidrogênio em δ 7,45 (H-8) que faz correlação com a carbonila em δ 178,6 (C-1), foi atribuído à posição C-8, enquanto que o hidrogênio em δ 7,96 (H-5) foi assinalado para a posição C-5. De acordo com as correlações ^1H - ^{13}C a longa distância, observa-se que o hidrogênio na posição C-5 (δ 7,95) também faz correlação forte com o carbono em δ 160,1 (C-7), o que permite inferir que a hidroxila está ligada ao carbono C-7 (Figura 20; página 99). Uma busca na literatura revelou que esta substância já foi isolada de outras espécies, como de *Chirita eburnea* (CAI *et al.*, 2005), sendo identificada como 7-hidroxi- α -dunniona. A comparação de seus dados de RMN (Tabela 19; página 97) confirmou isso. Foi obtido também o espectro de massas de alta resolução de **S1** (Figura 19; página 99), o qual apresentou um pico em m/z 259,0983 ($[\text{M}+\text{H}]^+$), correspondente à fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{O}_4$, equivalente à de **S1**.

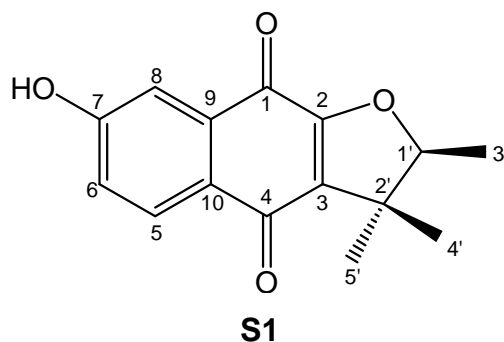


TABELA 19. DADOS DE RMN DE ^1H E $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DE **S1** (CDCl_3 , 400 MHz) E COMPARAÇÃO COM DADOS DA LITERATURA (ACETONA- D_6 , 500 MHz) (CAI *et al.*, 2005).

Posição	S1			7-hidroxi-α-dunniona	
	δ_{H} ; mult. (J em Hz)	δ_{C}	$^{\text{LD}}J_{\text{H,C}}$	δ_{H} ; mult. (J em Hz)	δ_{C}
1	-	178,6	-	-	178,9
2	-	N.O.	-	-	159,1
3	-	130,7	-	-	130,3
4	-	181,9	-	-	182,2
5	7,96 d (8,5)	128,6	4, 7, 9	7,86 dd (8,2:0,25)	128,9
6	7,11 dd (8,5:2,6)	120,5	7, 8, 10	7,17 dd (8,2:2,5)	121,0
7	-	160,1	-	-	162,6
8	7,45 d (2,6)	112,5	1, 6, 10	7,37 dd (2,5:0,25)	112,7
9	-	133,4	-	-	134,4
10	-	126,7	-	-	126,7
1'	4,57 q (6,6)	91,5	4', 5'	4,57 q (6,4)	91,6
2'	-	45,2	-	-	45,8
3'	1,44 d (6,6)	14,0	1', 2'	1,38 d (6,4)	14,4
4'	1,48 s	25,6	3, 1', 2', 5'	1,44 s	26,1
5'	1,28 s	20,6	3, 1', 2', 4'	1,26 s	20,7

N.O. - Não observado.

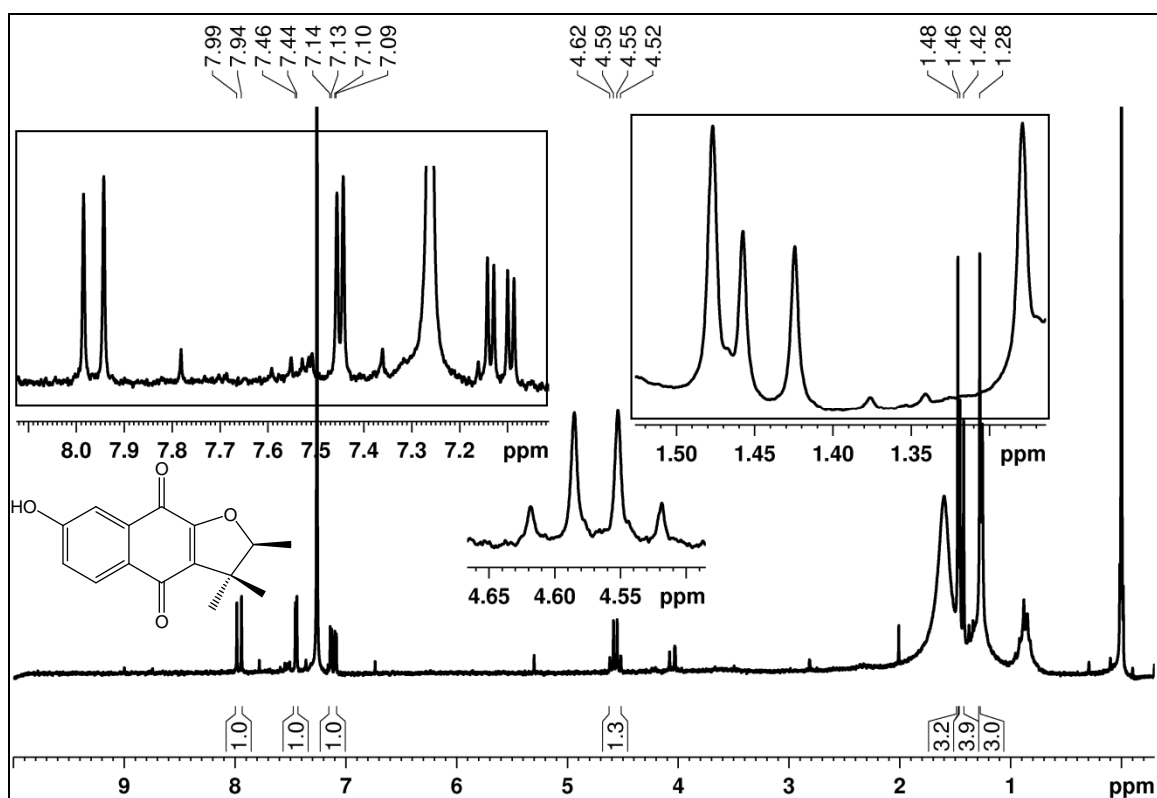


FIGURA 16. Espectro de RMN de ^1H de **S1** (CDCl_3 , 200 MHz).

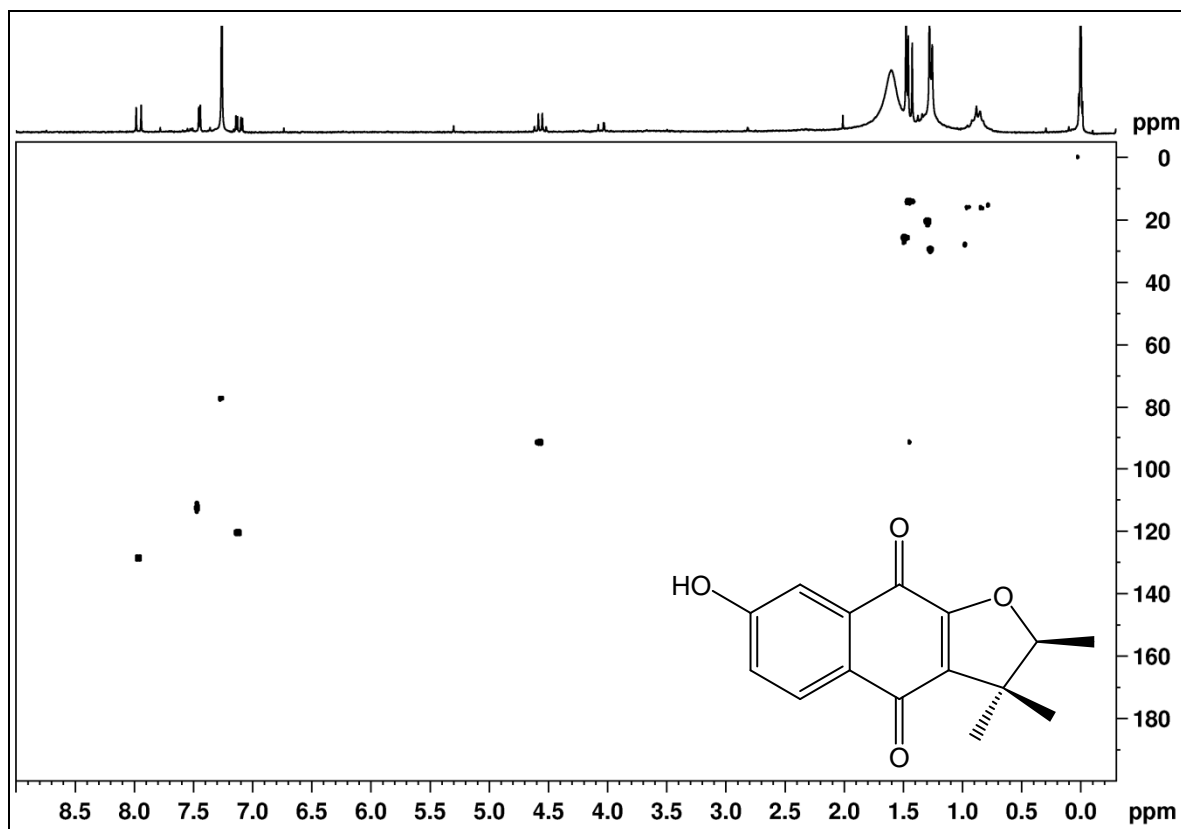


FIGURA 17. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S1** (CDCl_3 , 400 MHz).

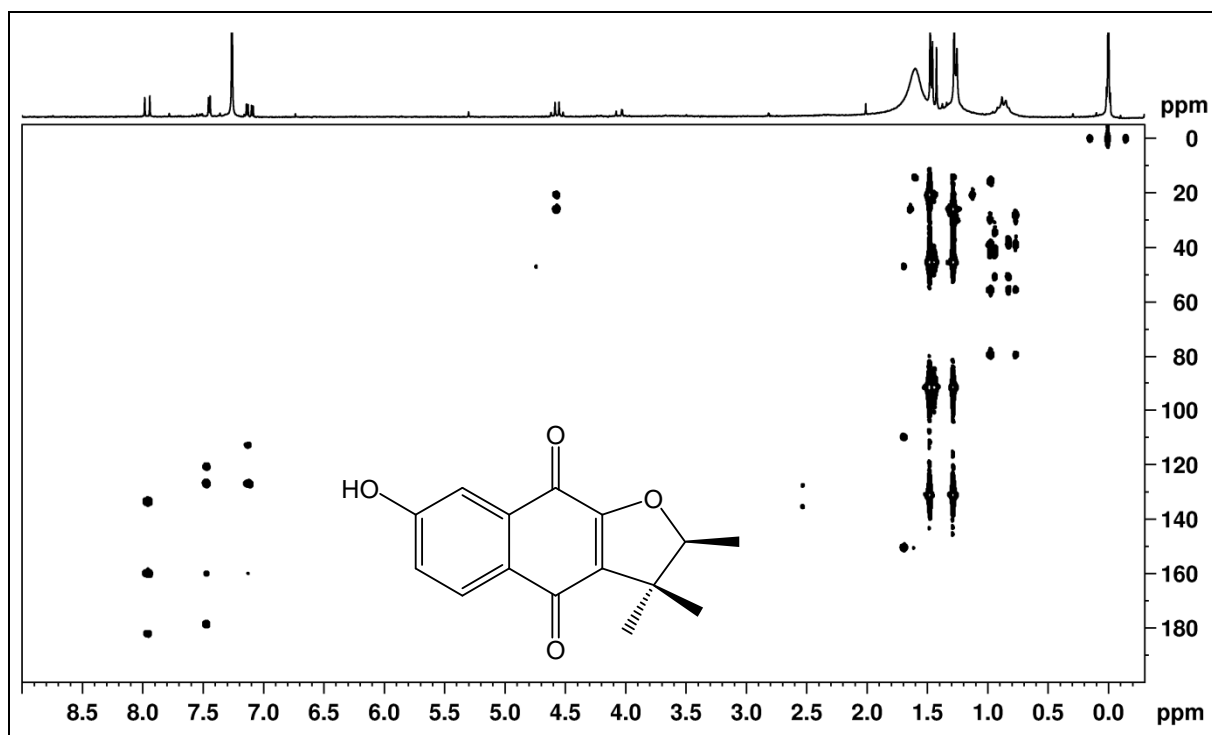


FIGURA 18. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S1** (CDCl_3 , 400 MHz).

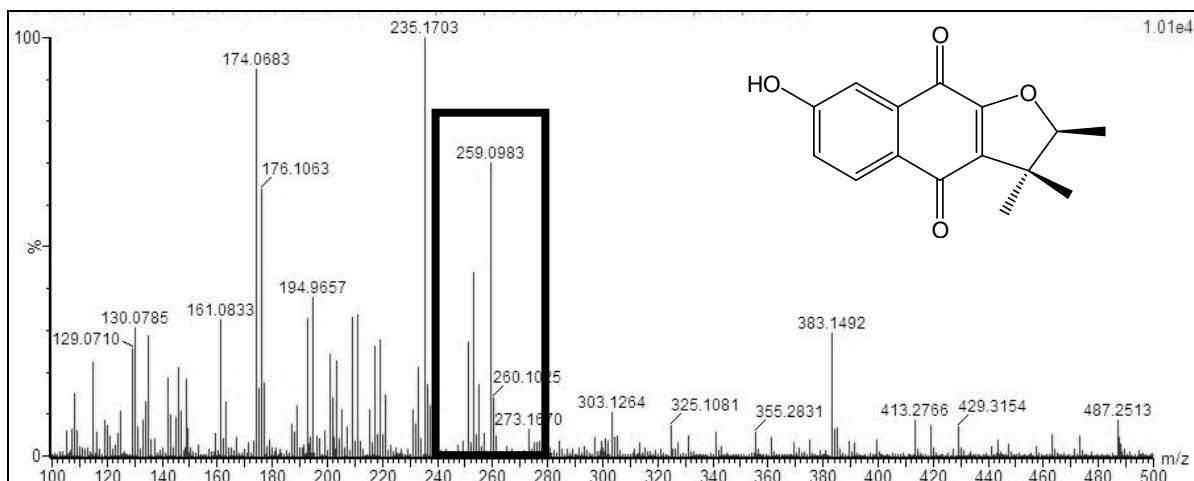


FIGURA 19. Espectro de massas de alta resolução no modo positivo ($[M+H]^+$) de **S1**.

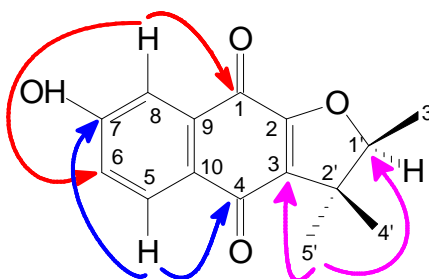


FIGURA 20. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S1**.

O espectro de RMN de ^1H da substância **S2** (Figura 21; página 100) foi muito semelhante ao da substância **S1**. As principais diferenças foram observadas na região dos hidrogênios aromáticos, que apresentou apenas dois simpletos (δ 7,51 (H-5) e 7,55 (H-8)), característico de hidrogênios em *para*, além de um simpleto alargado em δ 6,04 (OH - C-7) e de um sinal de metoxila em δ 4,03 (C-6). O espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (Figura 22; página 101) apresentou, entre outros, sinais de dois carbonos aromáticos oxigenados em δ 150,9 (C-6) e 149,4 (C-7). Os mapas de correlação ^1H - ^{13}C direta (Figura 23; página 101) e a longa distância (Figura 24; página 102) mostraram que os hidrogênios do grupo metoxila estão ligados ao carbono em δ 56,5 e fazem correlação com o carbono em δ 150,9 (C-6). Observa-se ainda que o hidrogênio em δ 7,51 (H-5) faz correlações com os carbonos em δ 182,1 (C-4), 149,4 (C-7) e 126,5 (C-9), enquanto que o hidrogênio em δ 7,55 (H-8) mostra correlações com os carbonos em δ 128,0 (C-10), 150,9 (C-6) e 177,9 (C-1) (Tabelas 20 e 21; páginas 116-117; Figura 26; página 102), com isso pode-se determinar que o grupo metoxila deve estar em C-6. De acordo com esses dados, esta substância

(**S2**) foi determinada como 6-metoxi-7-hidroxi- α -dunniona, inédita na literatura. A fórmula molecular de **S2** (C₁₆H₁₇O₅) pode ser confirmada a partir de EMAR (Figura 25; página 102), no qual o pico do íon [M+H]⁺ aparece em *m/z* 289,1076. Um isômero constitucional de **S2** (6-hidroxi-7-metoxi- α -dunniona) foi isolado em 2010 de *Streptocarpus dunnii* (SHERIDAN *et al.*, 2010).

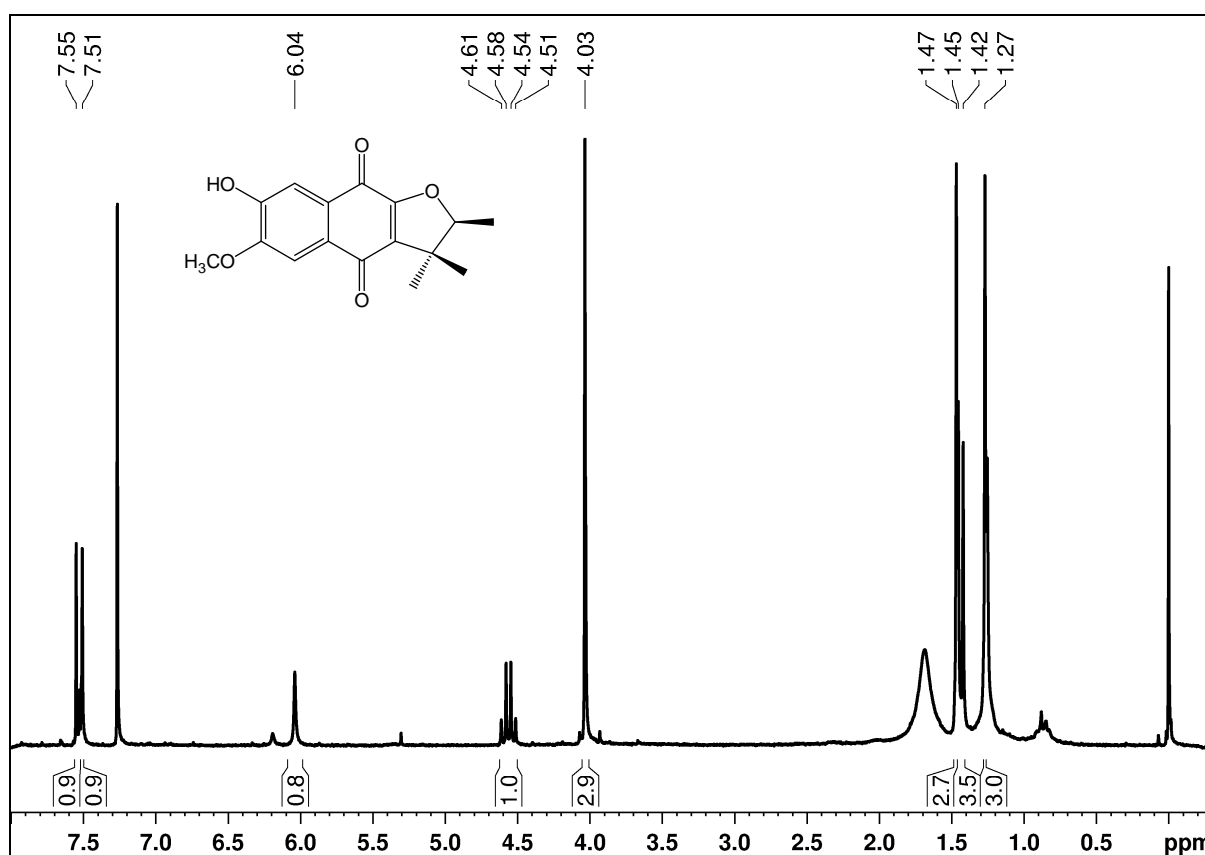
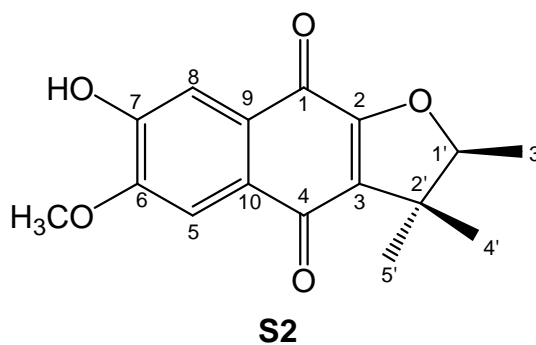


FIGURA 21. Espectro de RMN de ¹H de **S2** (CDCl₃, 200 MHz).

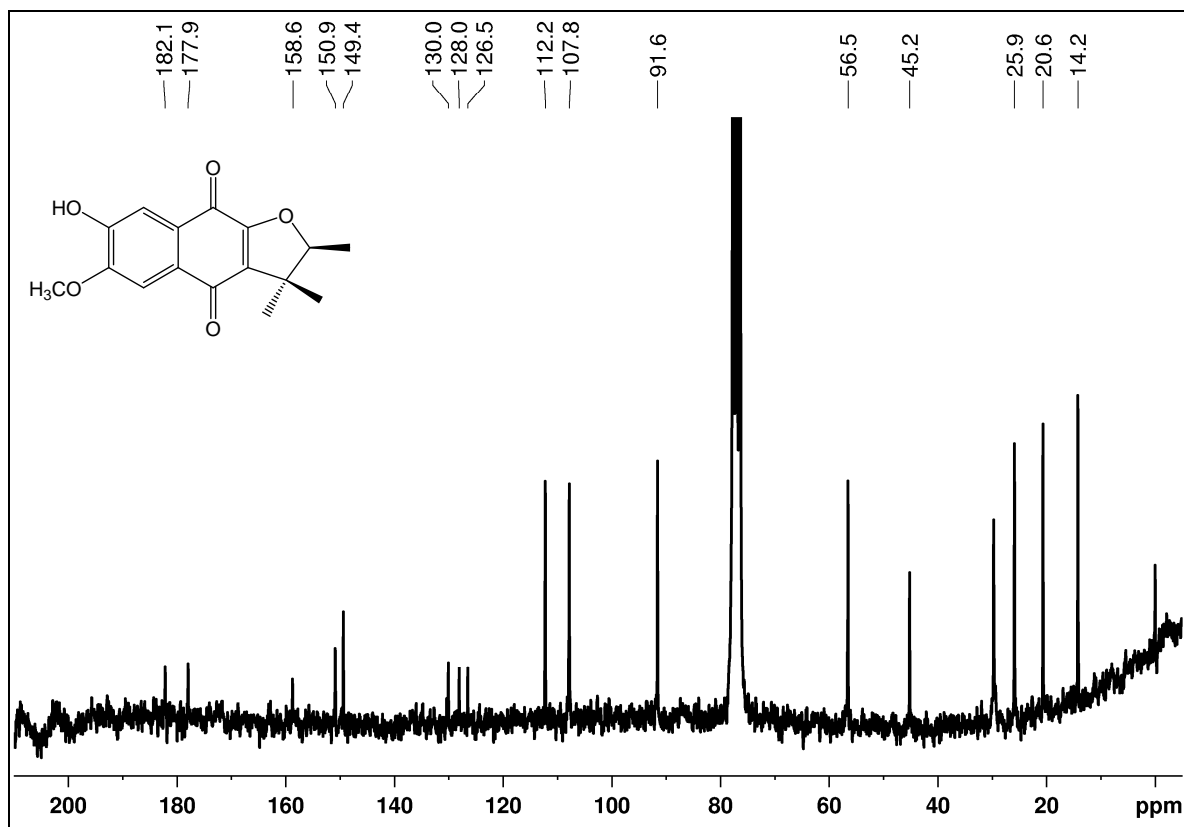


FIGURA 22. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de **S2** (CDCl_3 , 50 MHz).

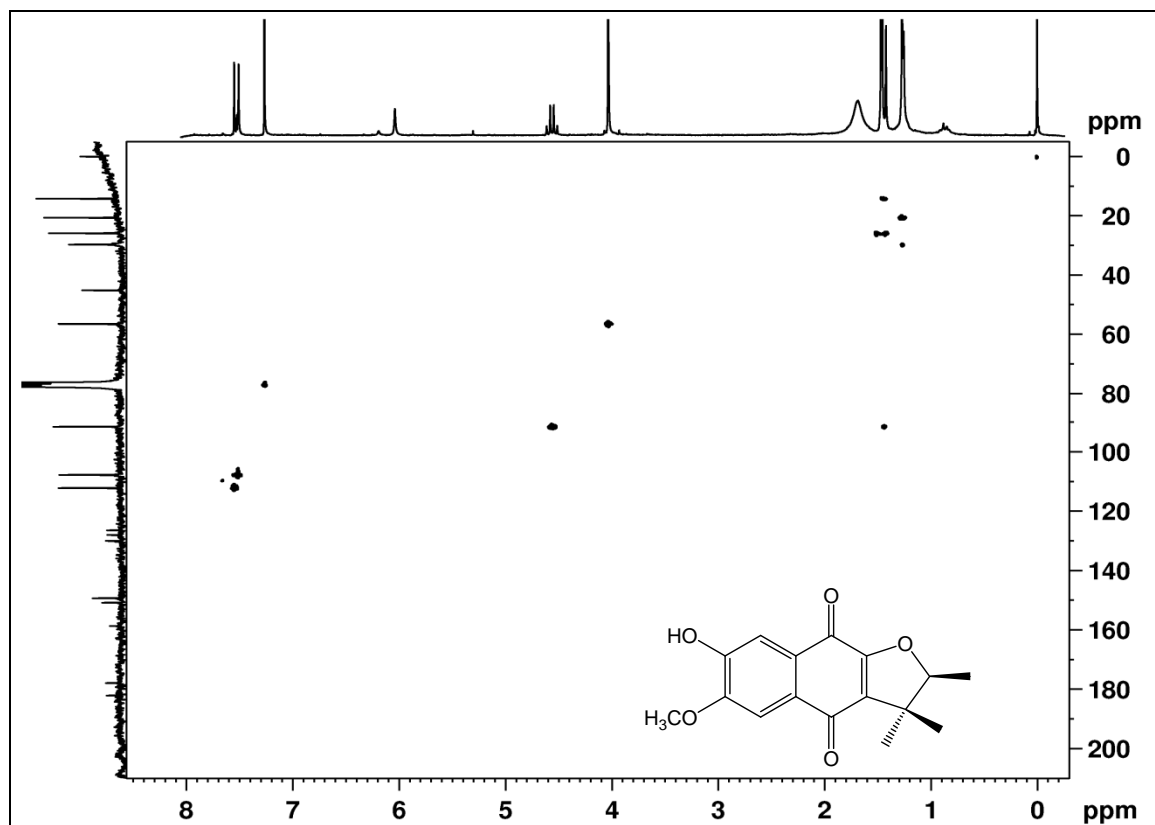


FIGURA 23. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S2** (CDCl_3 , 400 MHz).

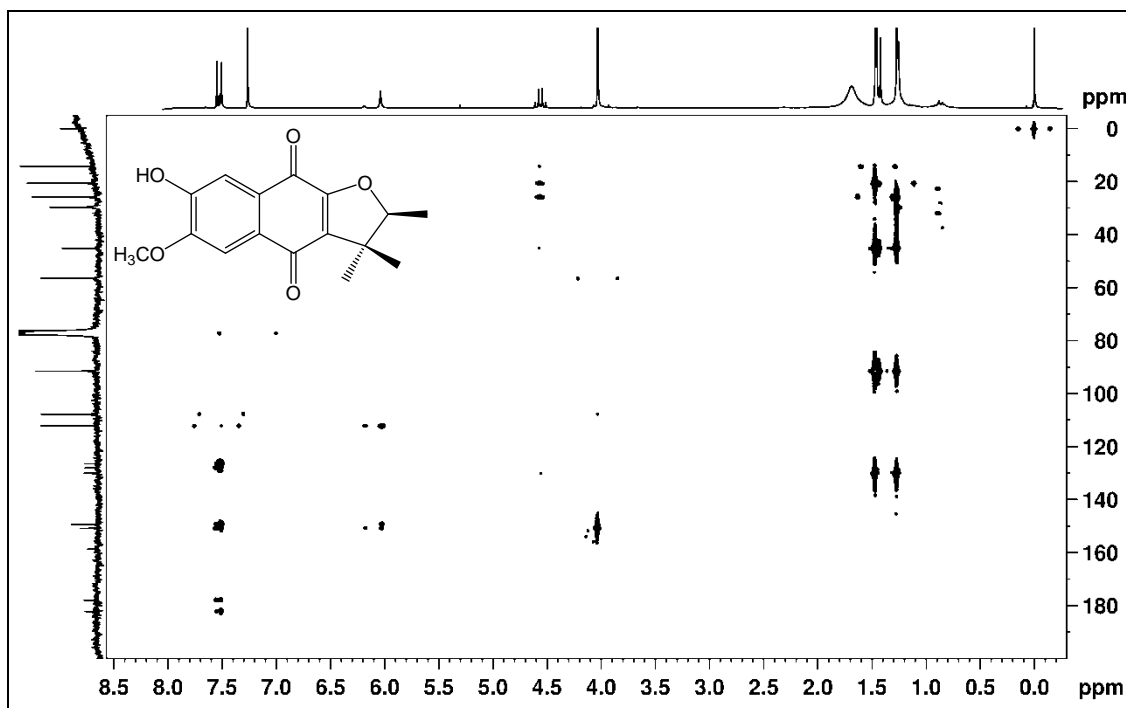


FIGURA 24. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S2** (CDCl_3 , 400 MHz).



FIGURA 25. Espectro de massas de alta resolução no modo positivo ($[\text{M}+\text{H}]^+$) de **S2**.

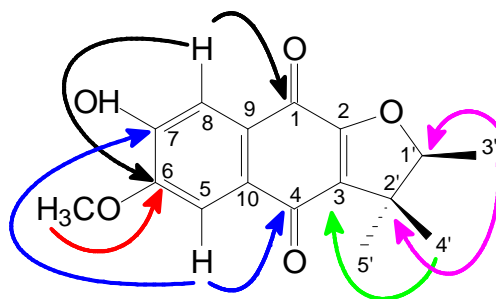
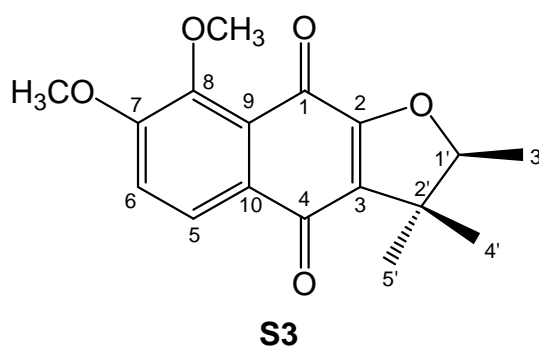


FIGURA 26. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S2**.

A substância **S3** apresentou no seu espectro de RMN de ^1H (Figura 27; página 104) sinais de dois hidrogênios na região de hidrogênios aromáticos como dupletos ($J=8,5$ Hz) em δ 7,86 (H-5) e 7,14 (H-6), dois grupos metoxila em δ 3,91 (H-8) e 3,95 (H-7). Analisando-se os experimentos de correlação ^1H - ^{13}C direta (Figura

28; página 104) e a longa distância (Figura 29; página 105) pode-se verificar que os grupos metoxila estão nas posições C-7 e C-8. As principais correlações foram as seguintes: os grupos metoxila em δ 3,91 e 3,95 estão ligados, respectivamente, aos carbonos em δ 149,9 (C-8) e 158,3 (C-7); o hidrogênio em δ 7,14 (H-6) faz correlação a longa distância com estes dois carbonos; o hidrogênio em δ 7,86 (H-5) faz correlação com os carbonos em δ 124,6 (C-9), 158,3 (C-7) e 181,7 (C-4), sendo este último do grupo carbonila em C-4 (Tabelas 20 e 21; páginas 116-117; Figura 31; página 105). Com isso, esta substância foi identificada como sendo 7,8-dimetoxi- α -dunniona, também inédita na literatura. A fórmula molecular $C_{17}H_{19}O_5$ foi confirmada pelo espectro de massas de alta resolução (Figura 30; página 105) que apresentou um pico em m/z 303,1233 ($[M+H]^+$) compatível com a estrutura de **S3**.



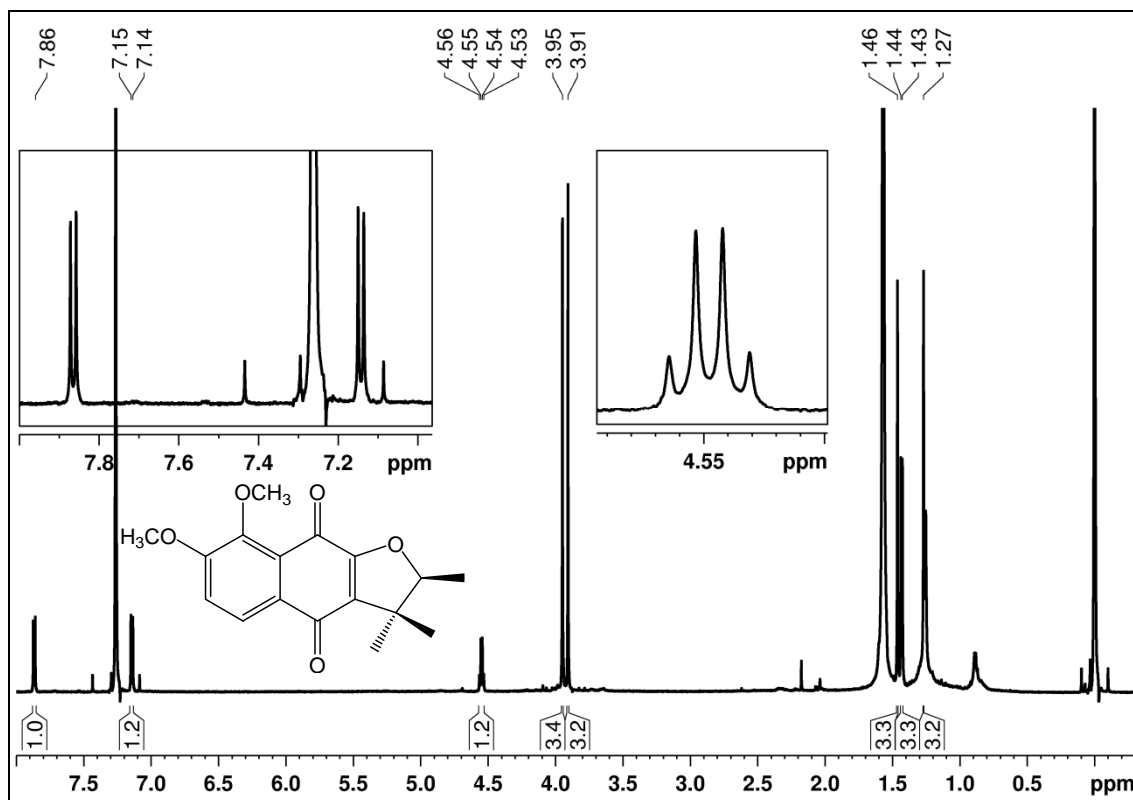


FIGURA 27. Espectro de RMN de ¹H de **S3** com ampliações (CDCl₃, 600 MHz).

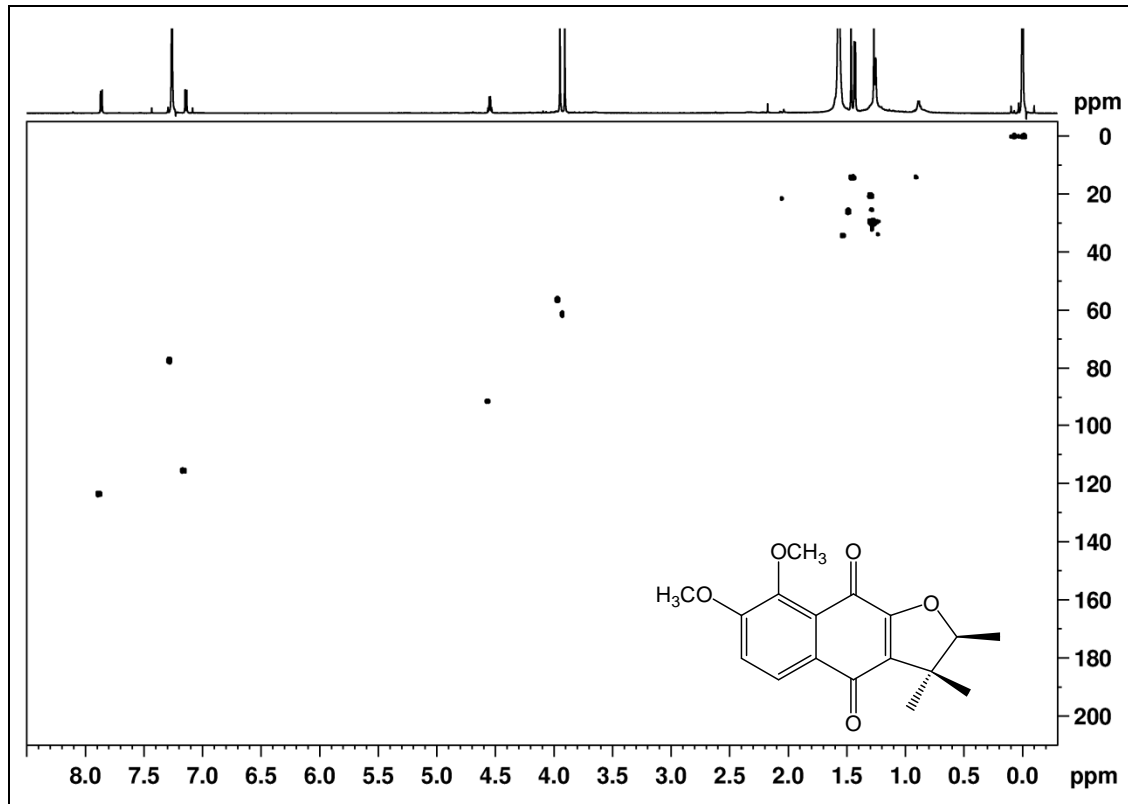


FIGURA 28. Mapa de correlação direta ¹H-¹³C de **S3** (CDCl₃, 400 MHz).

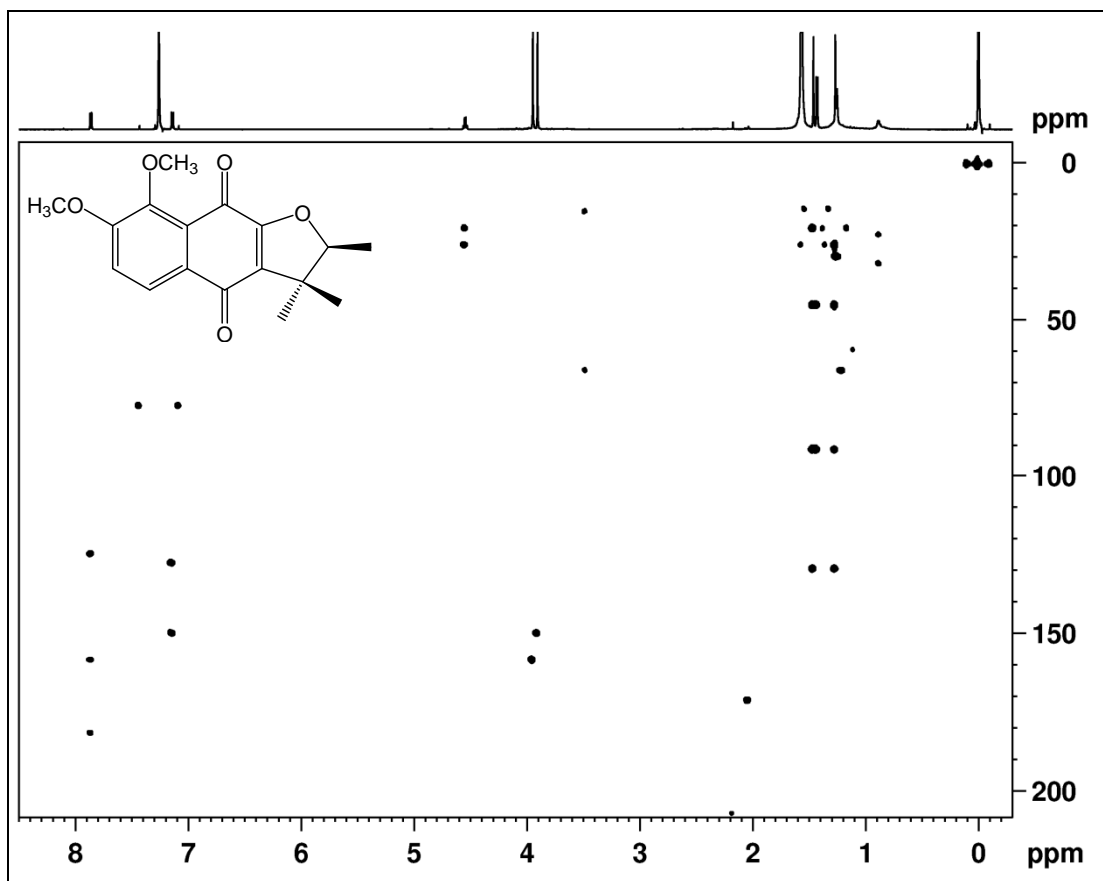


FIGURA 29. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S3** (CDCl_3 , 600 MHz).

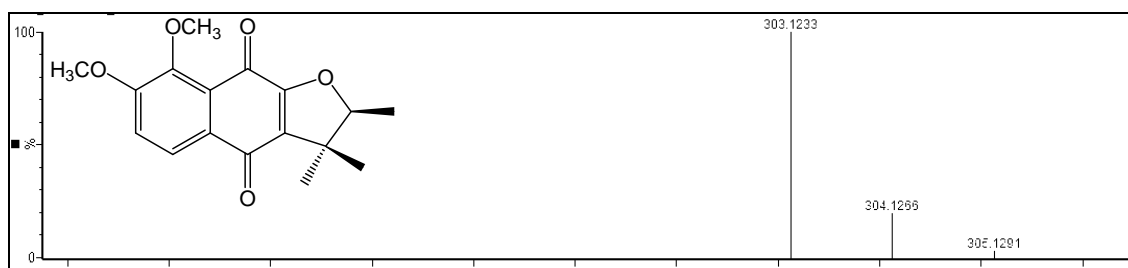


FIGURA 30. Espectro de massas de alta resolução no modo positivo ($[\text{M}+\text{H}]^+$) de **S3**.

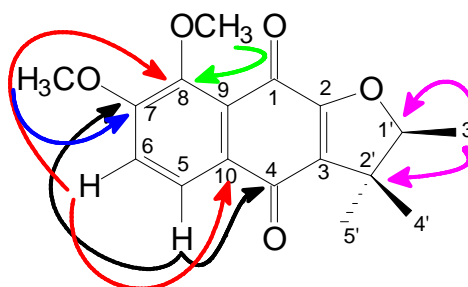
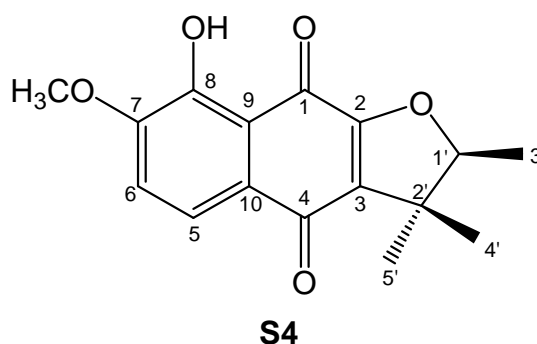


FIGURA 31. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S3**.

O espectro de RMN de ^1H da substância **S4** (Figura 32; página 107) foi muito semelhante ao da substância **S3**, pois apresentou dois sinais de hidrogênios na região de aromáticos (δ 7,59 (H-5) e 7,03 (H-6)) como dupletos de constante de acoplamento de 8,3 Hz. Entretanto esse espectro apresentou apenas um sinal de grupo metoxila integrando para três hidrogênios (δ 3,97) e um sinal de hidroxila quelada em δ 12,07. No mapa de correlação ^1H - ^{13}C a uma ligação (Figura 34; página 108), o grupo metoxila apresenta correlação com o carbono em δ 153,9 (C-7). A posição deste grupo e da hidroxila quelada (que precisam estar em C-5 ou C-8) foi decidida observando-se as correlações ^1H - ^{13}C à longa distância (Figura 35; página 108) dos hidrogênios do anel aromático. Esse experimento mostrou que o hidrogênio em δ 7,03 (H-6) faz correlação com os carbonos em δ 125,5 (C-10) e 152,6 (C-8), enquanto que o hidrogênio em δ 7,59 (H-5) faz correlação com os carbonos em δ 114,9 (C-9), 153,9 (C-7) e 181,0 (C-4) (Tabelas 20 e 21; páginas 116-117; Figura 37; página 109) indicando que o grupo metoxila deve estar em C-7 (δ 153,9) e a hidroxila está ligada ao carbono C-8 (δ 152,6) (Figura 33; página 107). Com essas informações e outras retiradas desse experimento e do mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C , **S4** foi identificada como sendo 7-metoxi-8-hidroxi- α -dunniona, uma substância inédita. O espectro de massas de alta resolução (Figura 36; página 109) confirmou a fórmula molecular de **S4** pois apresentou um pico em m/z 289,1072 ($[\text{M}+\text{H}]^+$) calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{O}_5$.



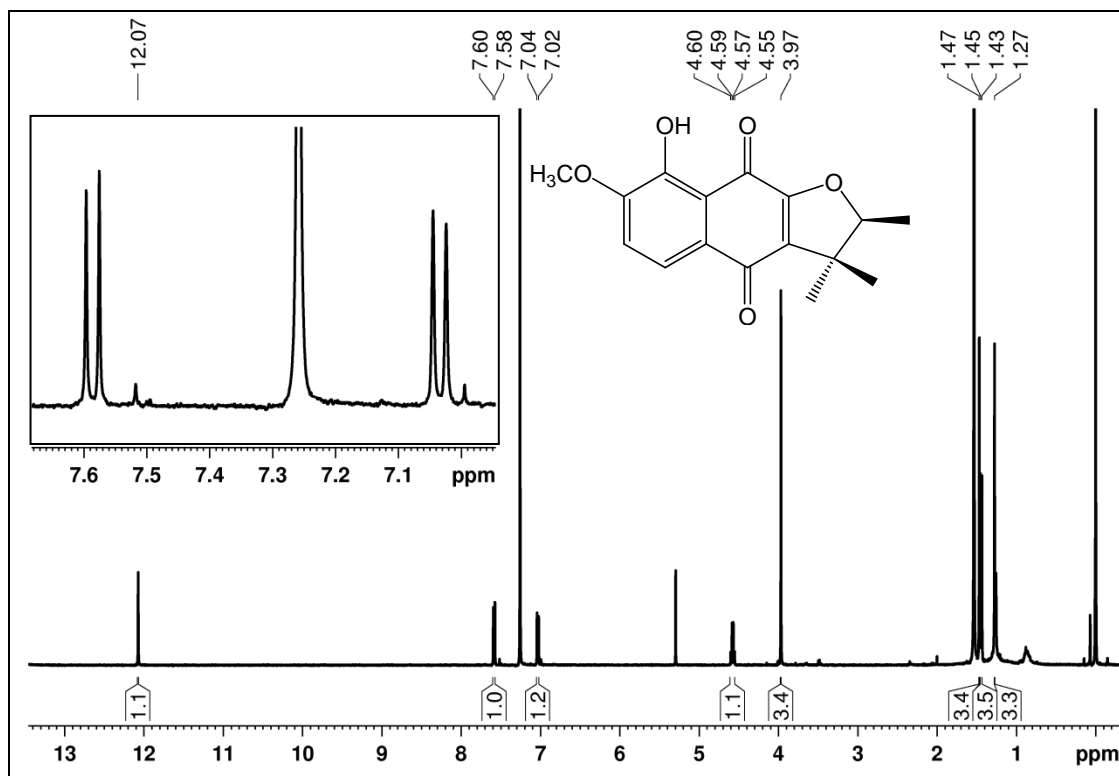


FIGURA 32. Espectro de RMN de ¹H de **S4** com ampliação (CDCl₃, 400 MHz).

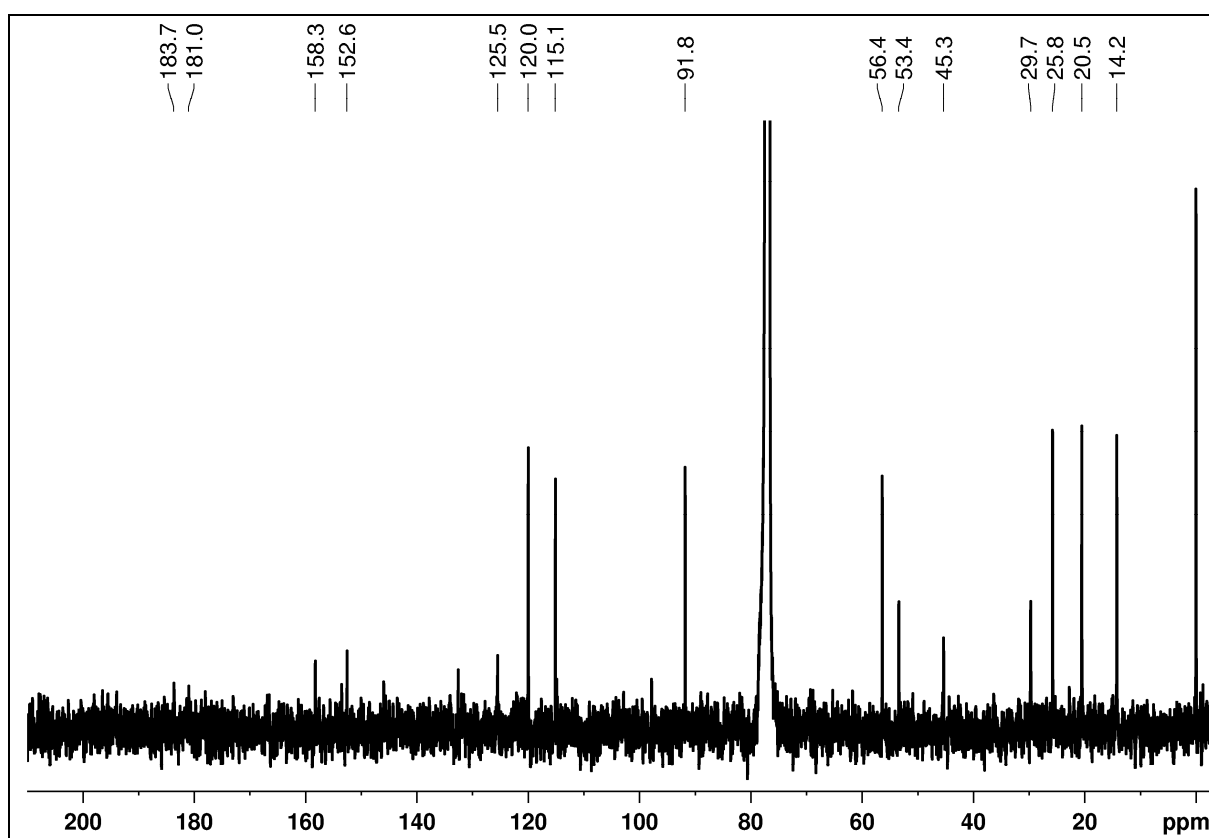


FIGURA 33. Espectro de RMN de ¹³C{¹H} de **S4** (CDCl₃, 50 MHz).

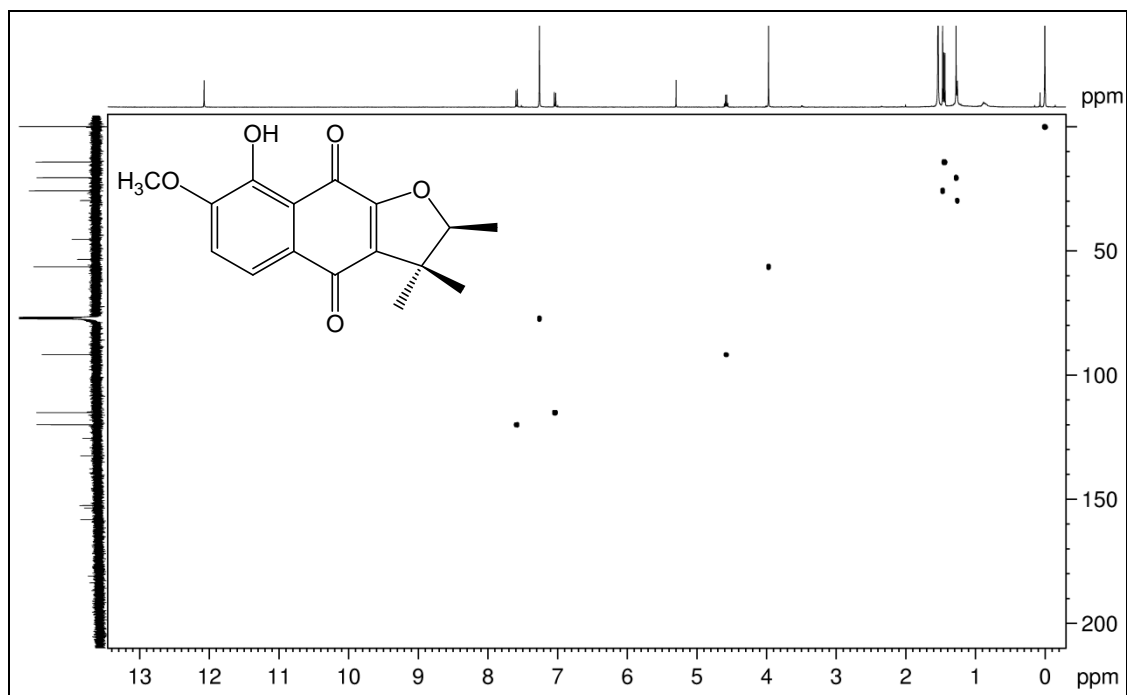


FIGURA 34. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S4** (CDCl_3 , 400 MHz).

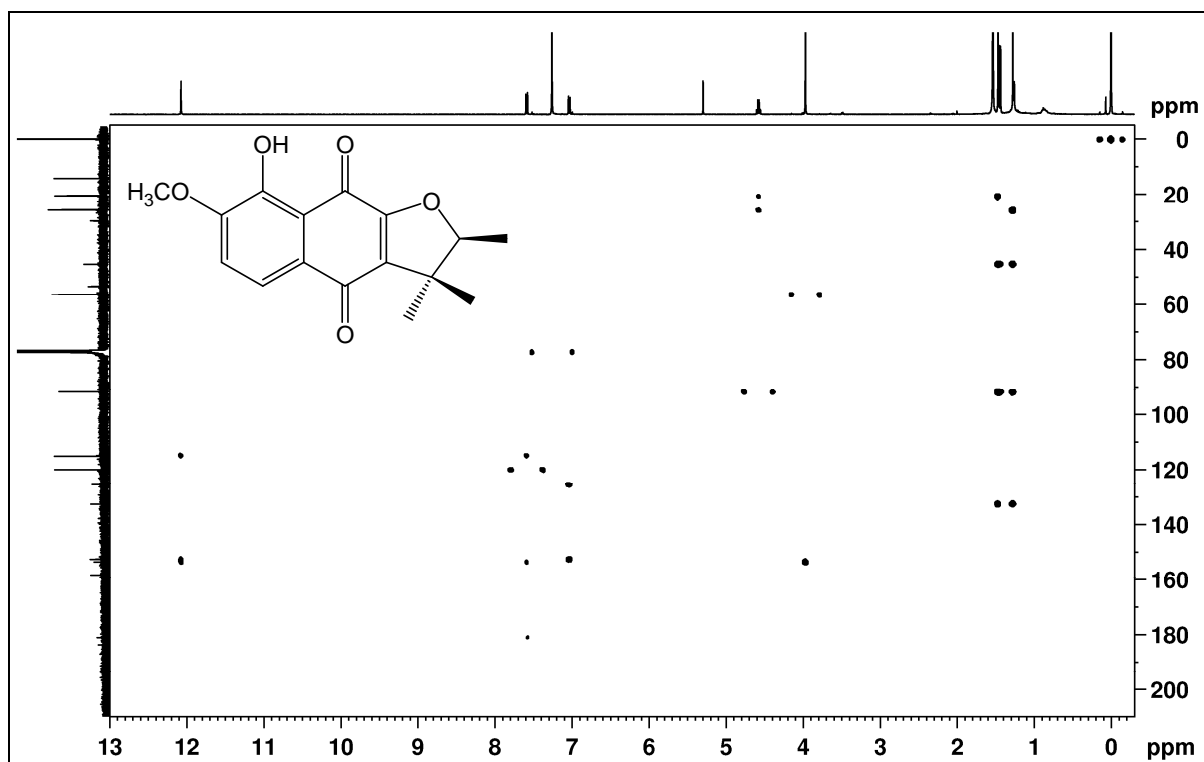


FIGURA 35. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S4** (CDCl_3 , 400 MHz).

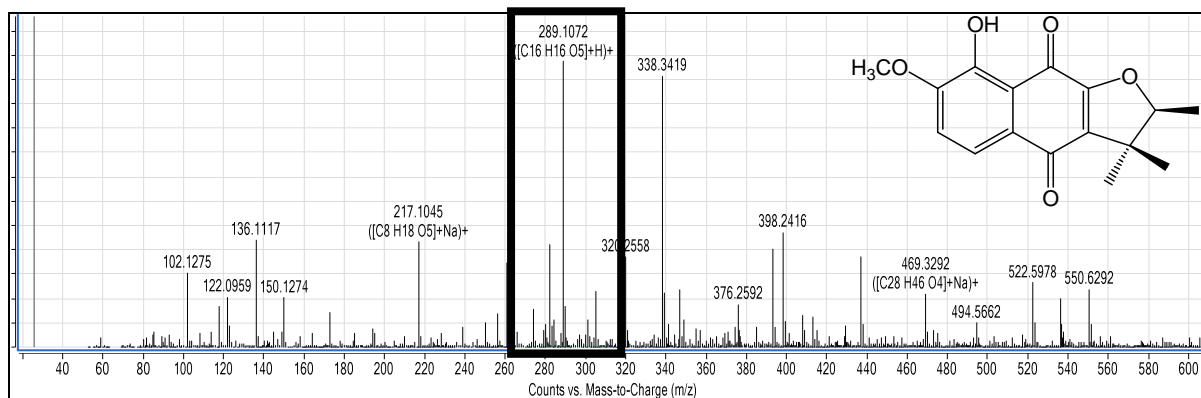


FIGURA 36. Espectro de massas de alta resolução no modo positivo ($[M+H]^+$) de **S4**.

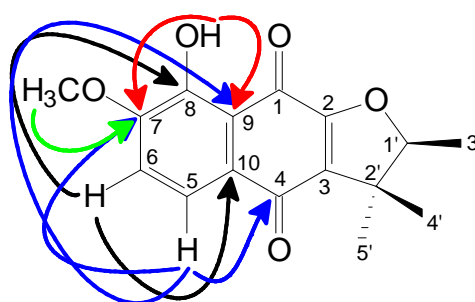


FIGURA 37. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S4**.

A substância **S5** foi isolada em uma mistura da qual foi identificado apenas o componente majoritário. O seu espectro de RMN de ^1H (Figura 38; página 110) foi muito semelhante ao da substância **S2**, com dois simpletos na região de hidrogênios aromáticos (δ 7,55 (H-8) e 7,51 (H-5)), mas apresentando sinais de dois grupos metoxila, quase sobrepostos, em δ 4,03. Com os mapas de correlação ^1H - ^{13}C direta (Figura 39; página 111) e a longa distância (Figura 40; página 111), foi determinada a posição dos grupos metoxila em C-6 e C-7, pois o hidrogênio em δ 7,51 (H-5) mostrou correlação com o grupo carbonila em δ 182,2 (C-4) e o hidrogênio em δ 7,55 (H-8) com o grupo carbonila em δ 178,0 (C-1) (Tabelas 20 e 21; páginas 116-117; Figura 41; página 112). A estrutura de **S5** foi determinada como sendo 6,7-dimetoxi- α -dunniona, porém por estar em mistura, nenhum outro experimento foi realizado com esta substância.

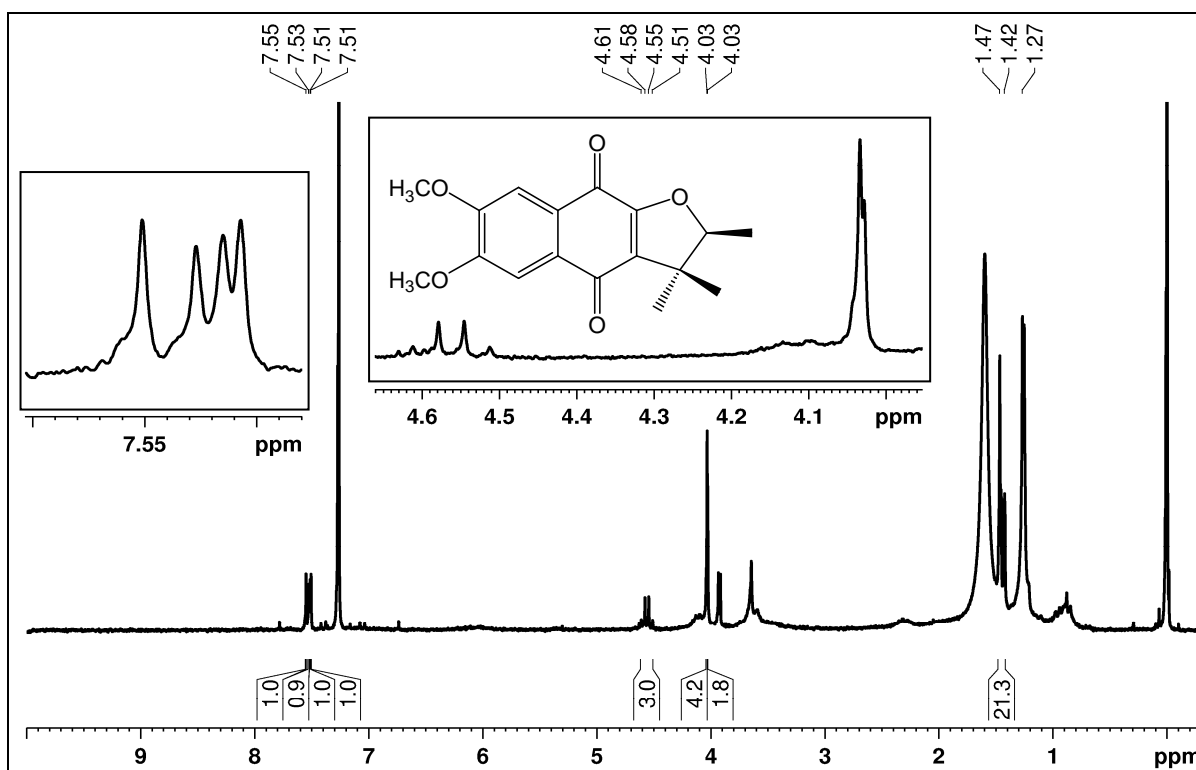
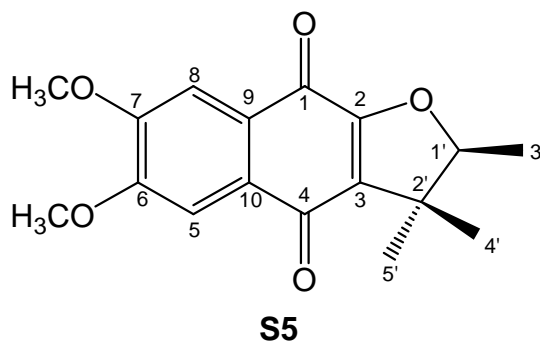


FIGURA 38. Espectro de RMN de ^1H de **S5** com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz).

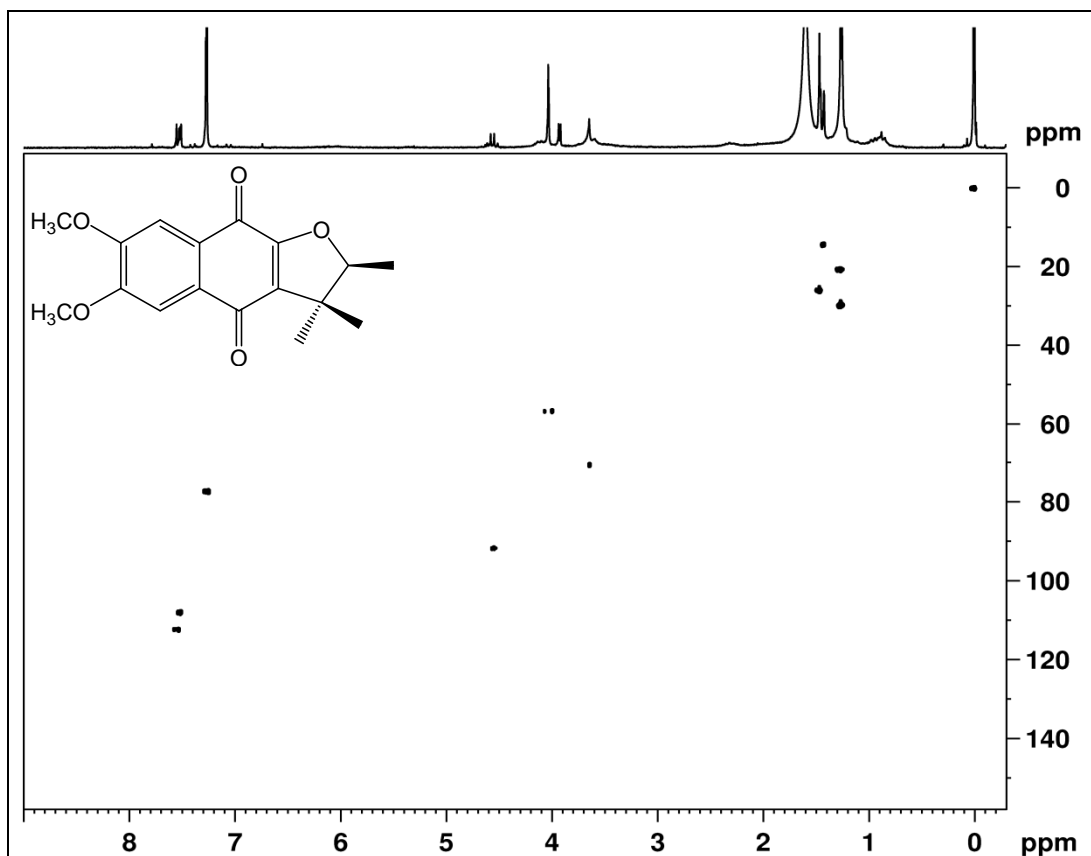


FIGURA 39. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S5** (CDCl_3 , 400 MHz).

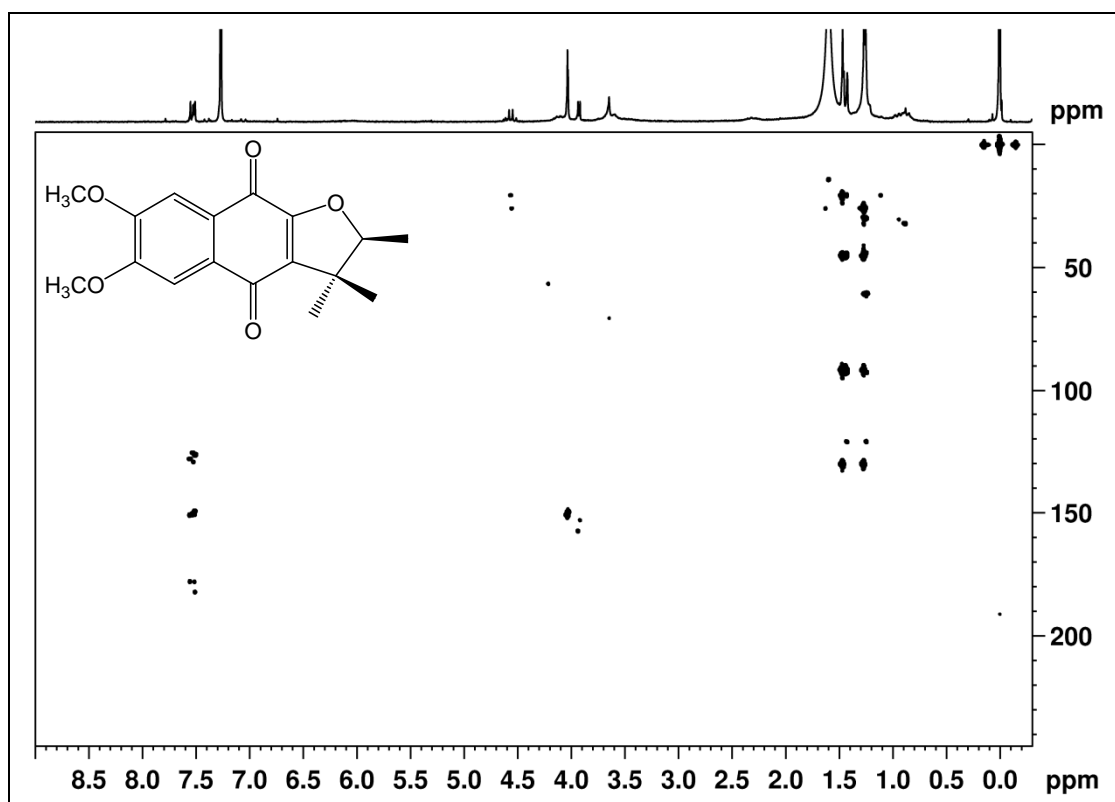


FIGURA 40. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S5** (CDCl_3 , 400 MHz).

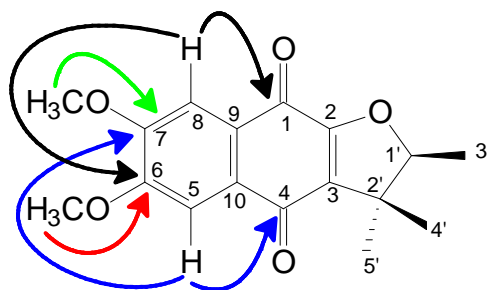
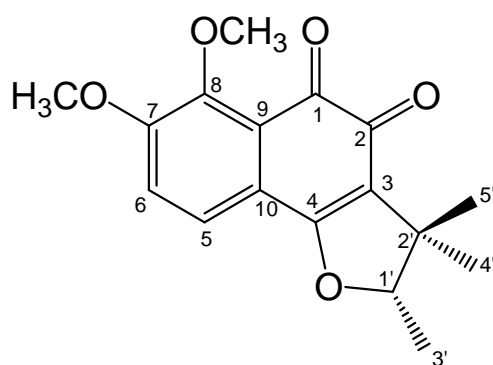
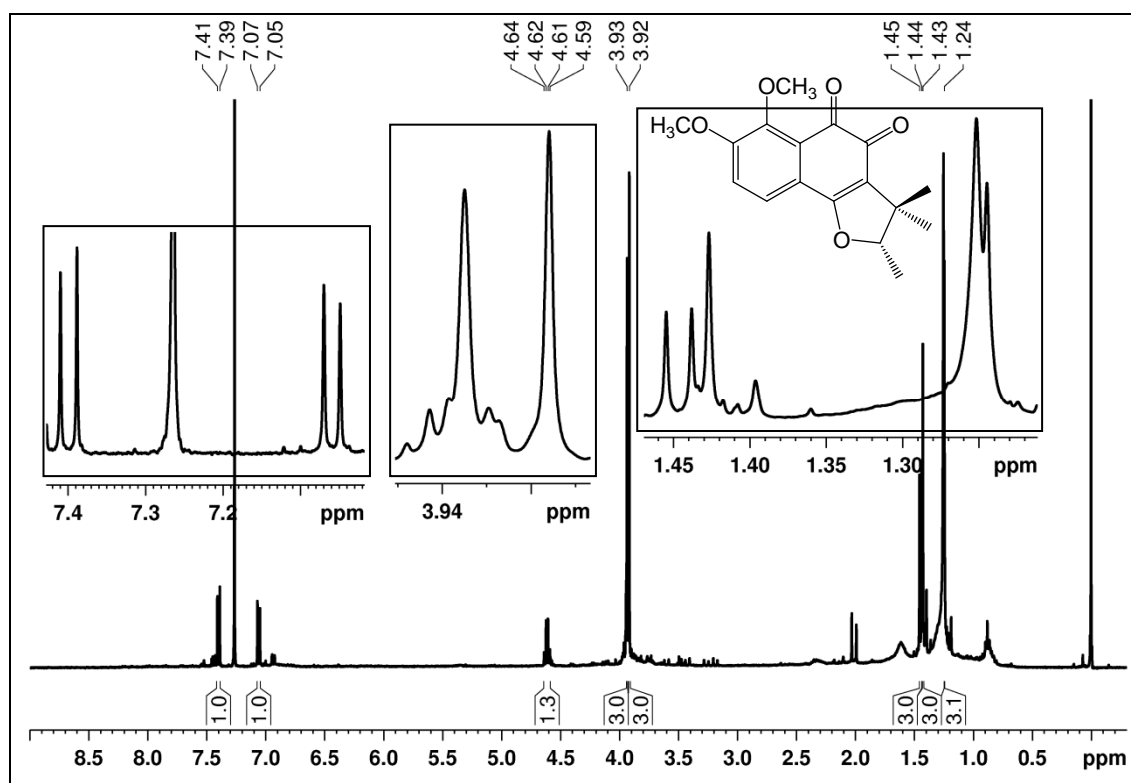


FIGURA 41. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S5**.

A substância **S6** apresentou um espectro de RMN de ^1H (Figura 42; página 113) muito semelhante ao de **S3** e **S4**, pois apresentou dois sinais na região de hidrogênios aromáticos em δ 7,40 (H-5) e 7,06 (H-6) como dois dupletos de constante de acoplamento de 8,4 Hz, caracterizando uma relação *orto*, e dois grupos metoxila em δ 3,93 e 3,92. O espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (Figura 43; página 114) apresentou 17 sinais, sendo dois em δ 181,4 (C-1) e 175,5 (C-2), característicos de grupos carbonila, e outro em δ 168,5, que é característico de C-4 nas dunnionas (INOUE *et al.*, 1982). Pelo mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (Figura 45; página 115), pode-se observar que o hidrogênio em δ 7,40 (H-5) mostra correlações com os carbonos em δ 124,0 (C-9), 157,4 (C-7) e 168,5 (C-4), enquanto que o hidrogênio em δ 7,06 (H-6) apresenta correlações com os carbonos em δ 120,6 (C-10) e 152,9 (C-8) (Figura 48; página 116). A análise das demais correlações, além dos dados do mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (Figura 44; página 114; Tabelas 20 e 21; páginas 116-117) levou à identificação de **S6** como 7,8-dimetoxidunniona, uma substância que é inédita na literatura. Os deslocamentos químicos dos hidrogênios dos grupos metila 4' e 5' foram determinados através de experimentos de NOE. Irradiação do sinal de H-4' (δ 1,24, s) causou o aumento da intensidade do duplete em δ 1,45 (H-3'), mas não do quarteto em δ 4,61 (H-1') (Figura 46; página 115). A fórmula molecular de **S6** foi confirmada pelo espectro de massas de alta resolução no modo positivo (Figura 47; página 116), o qual apresentou um pico em m/z 303,1232 ($[\text{M}+\text{H}]^+$), compatível com $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{O}_5$.

**S6**FIGURA 42. Espectro de RMN de ^1H de **S6** com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz).

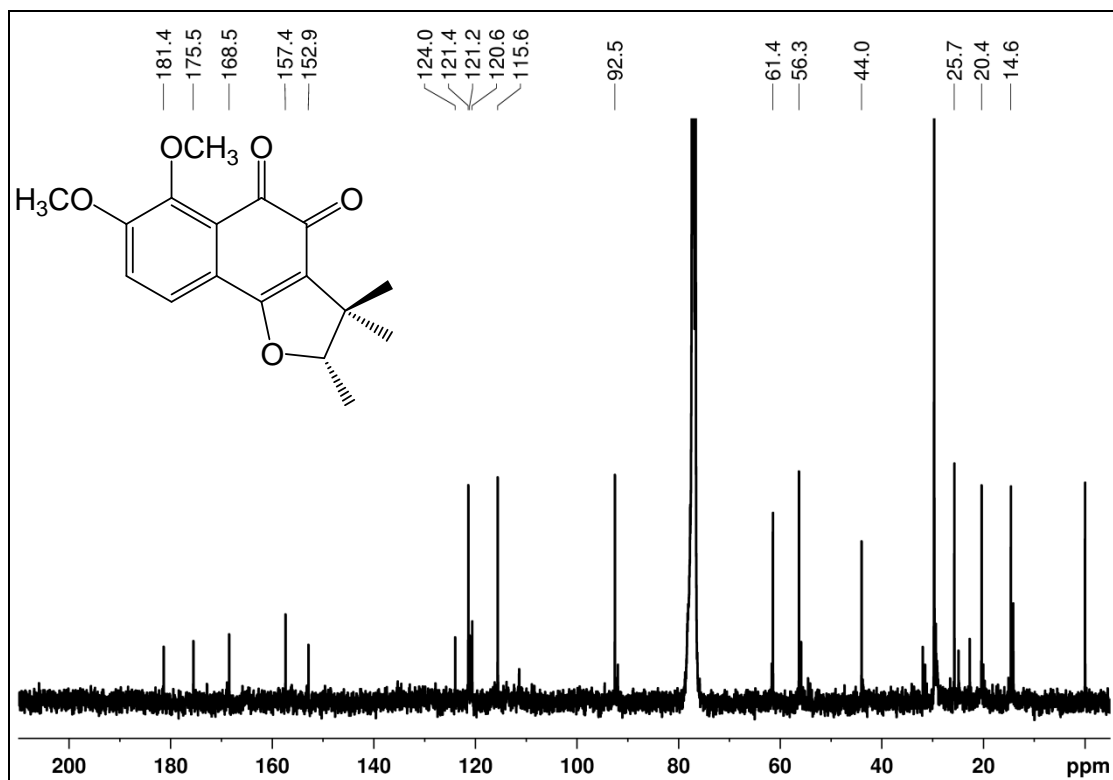


FIGURA 43. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de **S6** (CDCl_3 , 50 MHz).

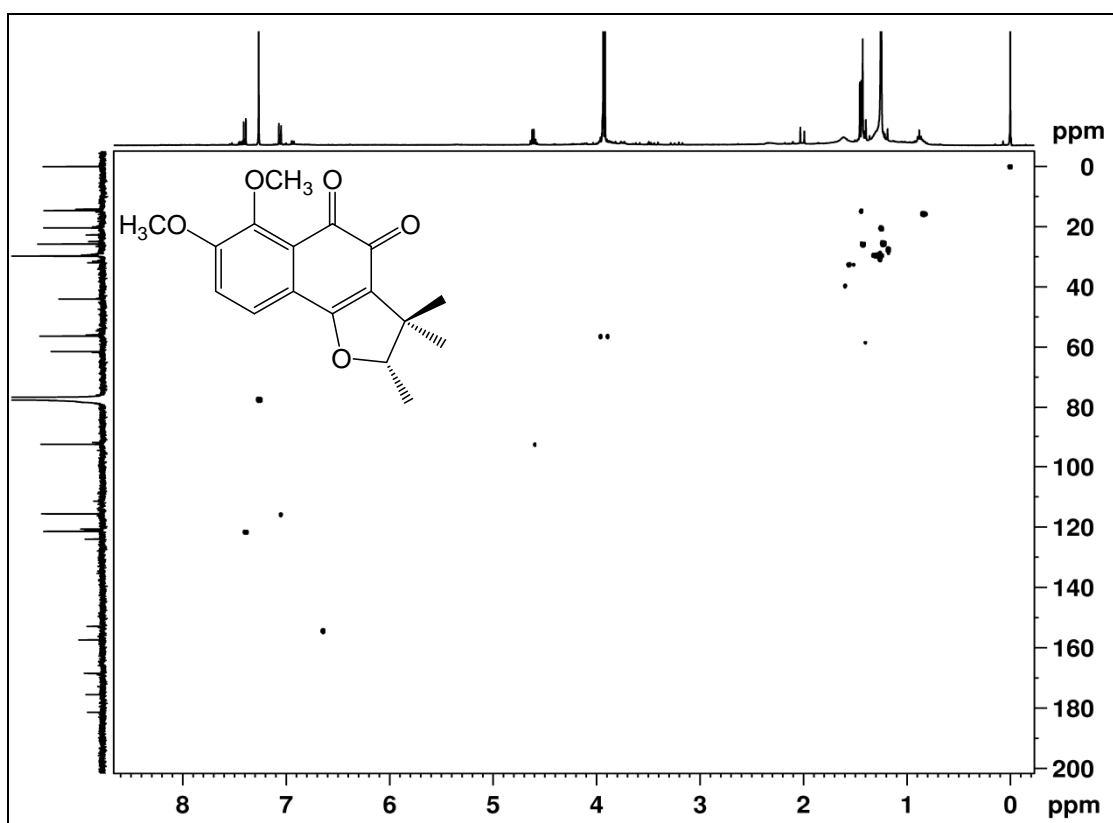


FIGURA 44. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S6** (CDCl_3 , 400 MHz).

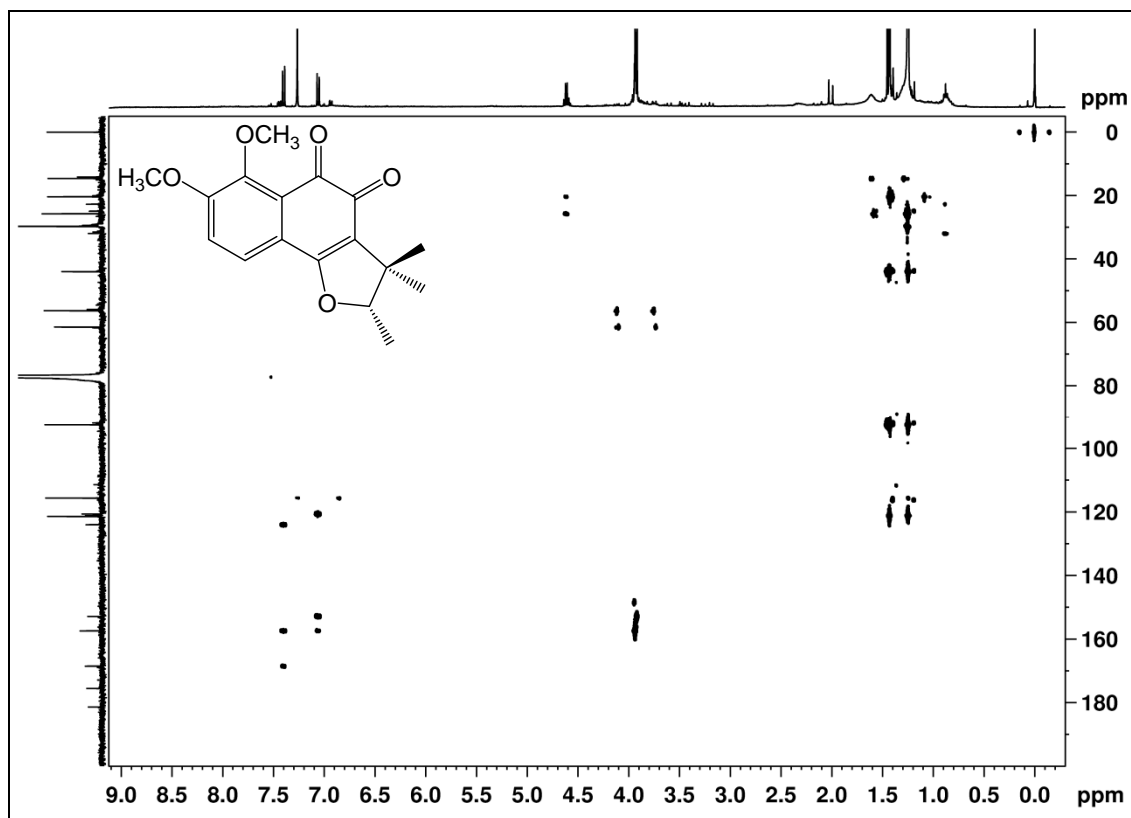


FIGURA 45. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S6** (CDCl_3 , 400 MHz).

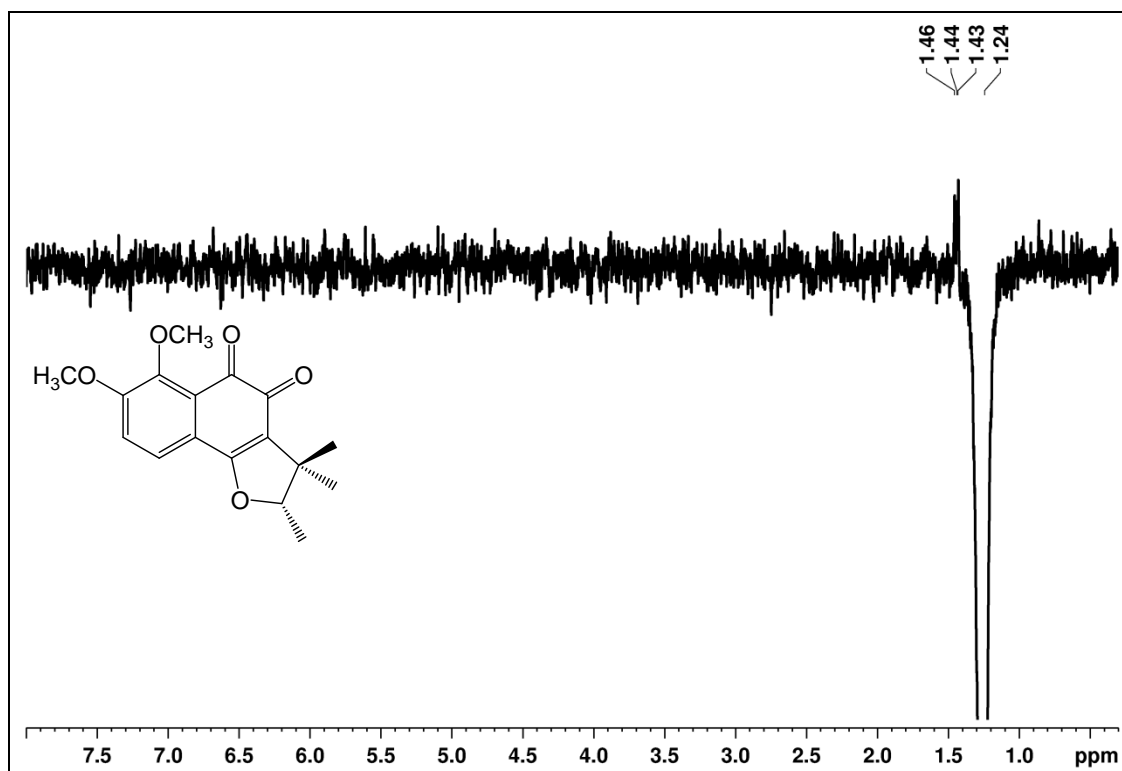


FIGURA 46. NOE irradiando o hidrogênio em δ 1,24 (H-4') de **S6** (CDCl_3 , 400 MHz).

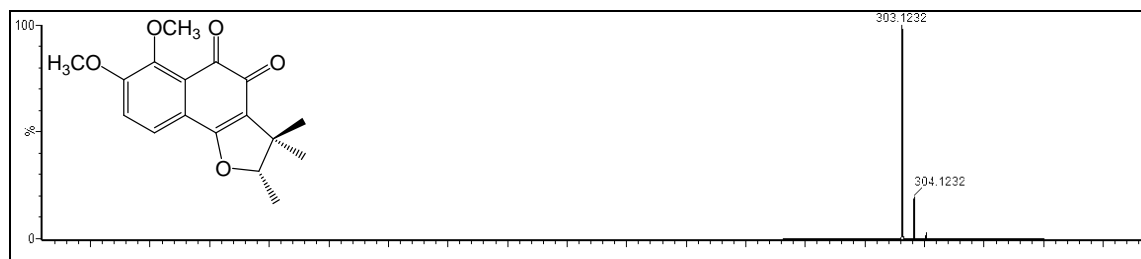


FIGURA 47. Espectro de massas de alta resolução no modo positivo ($[M+H]^+$) de **S6**.

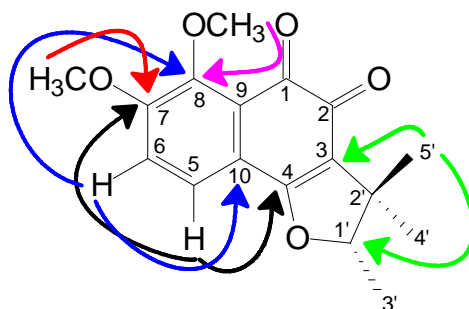


FIGURA 48. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S6**.

TABELA 20. DADOS DE RMN DE $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DE **S2**, **S3**, **S4**, **S5** E **S6** (CDCl_3).

Posição	S2	S3	S4	S5	S6
1	177,9	N.O.	183,7	178,0	181,4
2	158,6	N.O.	158,3	N.O.	175,5
3	130,0	129,3	132,6	130,1	121,2
4	182,1	181,7	181,0	182,2	168,5
5	107,8	123,4	120,0	107,8	121,4
6	150,9	115,5	115,1	150,9	115,6
7	149,4	158,3	153,9	149,5	157,4
8	112,2	149,9	152,6	112,1	152,9
9	126,5	124,6	114,9	126,4	124,0
10	128,0	127,3	125,5	128,1	120,6
1'	91,6	91,3	91,8	91,6	92,5
2'	45,2	45,2	45,3	45,2	44,0
3'	14,2	14,2	14,2	14,3	14,6
4'	20,6	20,6	20,5	20,5	20,4
5'	25,9	25,9	25,8	25,9	25,7
6-OCH ₃	56,5	-	-	56,7	-
7-OCH ₃	-	56,1	56,4	56,6	56,3
8-OCH ₃	-	61,2	-	-	61,4

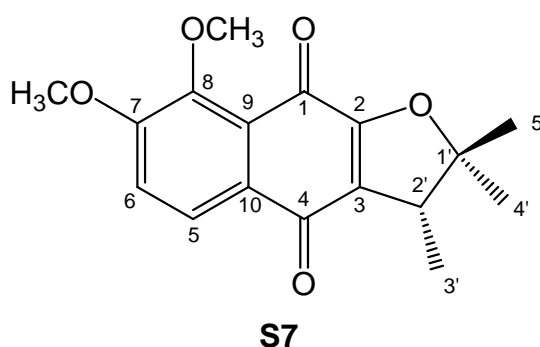
N.O. – Não observado.

TABELA 21. DADOS DE RMN DE ^1H E HMBC DAS SUBSTÂNCIAS **S2**, **S3**, **S4**, **S5** E **S6** (CDCl_3).

	S2^a		S3^b		S4^a		S5^a		S6^a	
Pos.	δ_{H} ; mult. (<i>J</i> em Hz)	^{LD} <i>J</i> _{H,C}	δ_{H} ; mult. (<i>J</i> em Hz)	^{LD} <i>J</i> _{H,C}	δ_{H} ; mult. (<i>J</i> em Hz)	^{LD} <i>J</i> _{H,C}	δ_{H} ; mult. (<i>J</i> em Hz)	^{LD} <i>J</i> _{H,C}	δ_{H} ; mult. (<i>J</i> em Hz)	^{LD} <i>J</i> _{H,C}
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	7,51 <i>s</i>	4,7,9	7,86 <i>d</i> (8,5)	4,7,9	7,59 <i>d</i> (8,3)	4,7,9	7,51 <i>s</i>	4,7,9	7,40 <i>d</i> (8,4)	4,7,9
6	-	-	7,14 <i>d</i> (8,5)	7,8,10	7,03 <i>d</i> (8,3)	8,10	-	-	7,06 <i>d</i> (8,4)	8,10
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	7,55 <i>s</i>	1,6,10	-	-	-	-	7,55 <i>s</i>	1,6,10	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1'	4,56 <i>q</i> (6,6)	4',5'	4,55 <i>q</i> (6,8)	4'	4,58 <i>q</i> (6,6)	4',5'	4,56 <i>q</i> (6,5)	4',5'	4,61 <i>q</i> (6,7)	4',5'
2'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3'	1,43 <i>d</i> (6,6)	1',2'	1,43 <i>d</i> (6,8)	1',2'	1,44 <i>d</i> (6,6)	1',2'	1,42 <i>d</i> (6,5)	1',2',4'	1,45 <i>d</i> (6,7)	1',2'
4'	1,27 <i>s</i>	3,1',2',5'	1,27 <i>s</i>	3,1',2',5'	1,27 <i>s</i>	3,1',2',5'	1,27 <i>s</i>	3,1',2',5'	1,24 <i>s</i>	3,1',2',5'
5'	1,47 <i>s</i>	3,1',2',4'	1,46 <i>s</i>	3,1',2',4'	1,47 <i>s</i>	3,1',2',4'	1,47 <i>s</i>	3,1',2',4'	1,43 <i>s</i>	3,1',2',4'
6-OCH₃	4,03 <i>s</i>	6	-	-	-	-	4,03 <i>s</i>	6	-	-
7-OH	6,04 <i>s</i>	6,7,8	-	-	-	-	-	-	-	-
7-OCH₃	-	-	3,95 <i>s</i>	7	3,97 <i>s</i>	7	4,03 <i>s</i>	7	3,93 <i>s</i>	7
8-OH	-	-	-	-	12,07 <i>s</i>	7,9	-	-	-	-
8-OCH₃	-	-	3,91 <i>s</i>	8	-	-	-	-	3,92 <i>s</i>	8

N.O. – Não observado; ^a 400 MHz; ^b 600 MHz

A substância **S7** apresentou um espectro de RMN de ^1H (Figura 49; página 119) muito semelhante ao de **S3** e **S6**. Foram observados sinais de dois hidrogênios aromáticos em δ 7,88 (H-5) e 7,13 (H-6) como dupletos ($J=8,7$ Hz) e de dois grupos metoxila em δ 3,94 e 3,91. Porém o hidrogênio oximetínico e o grupo metila C-3' estavam mais protegidos do que em **S3**, sendo observados em δ 3,22 (H-2') e 1,29 (H-3'), respectivamente. De acordo com os dados do mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (Figura 50; página 119) pode-se determinar que o hidrogênio em δ 3,22 (H-2') está ligado ao carbono em δ 44,5 (C-2'), cujo deslocamento químico indica ser não oxigenado. Pelo mapa de correlação ^1H - ^{13}C à longa distância (Figura 51; página 120) esse hidrogênio faz correlações com os carbonos em δ 14,3 (C-3'), 28,6 (C-4'), 125,9 (C-3) e 158,6 (C-2) e os hidrogênios em δ 1,29 (*d*, $J=7,2$ Hz - H-3') fazem correlação com os carbonos em δ 44,5 (C-2'), 93,4 (C-1') e 125,9 (C-3) (Figura 53; página 120). Analisando as demais correlações (Tabela 22; página 124), foi possível determinar a estrutura de **S7** com sendo uma naftoquinona com o grupo 2,3-diidro-2,2,3-trimetilfurano, e não 2,3-diidro-2,3,3-trimetilfurano como nas dunnionas. Este esqueleto é inédito na literatura e foi nomeado de canescenona, portanto **S7** foi denominada de 7,8-dimetoxicanescenona. A sua fórmula molecular foi confirmada pelo espectro de massas de alta resolução no modo positivo (Figura 52; página 120), no qual foi observado o pico em m/z 303,1224 ($[\text{M}+\text{H}]^+$) calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{O}_5$.



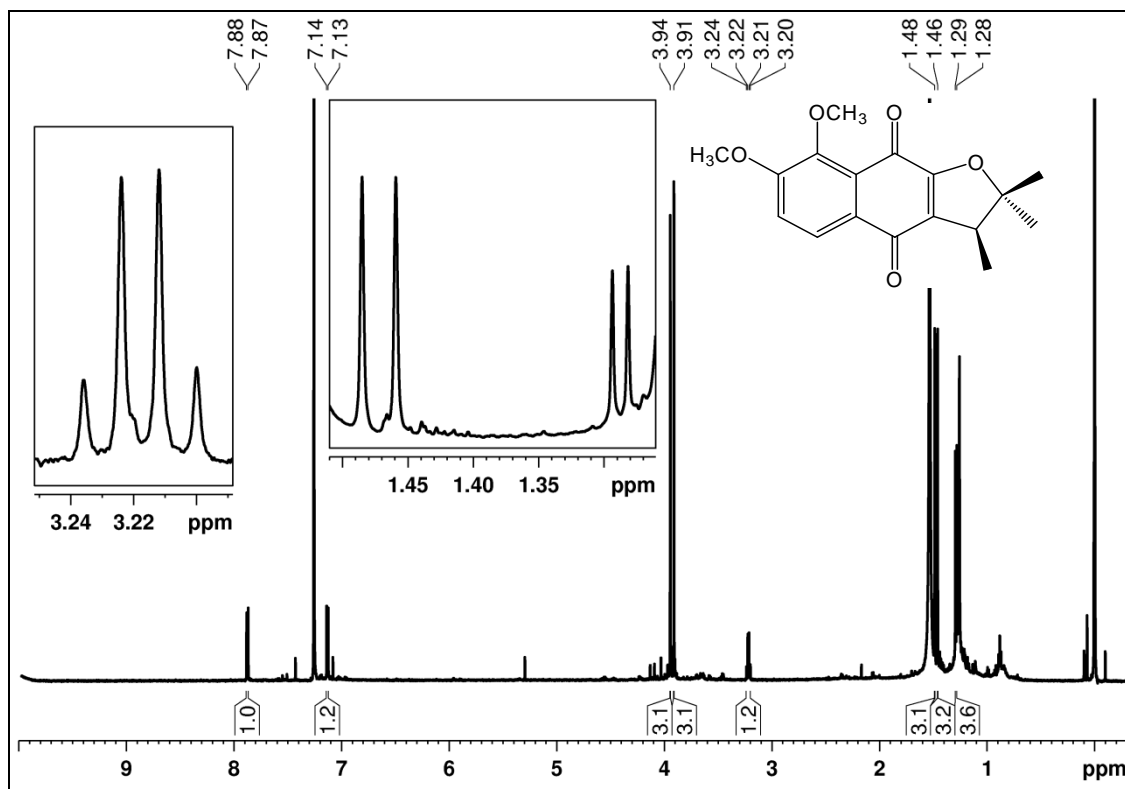


FIGURA 49. Espectro de RMN de ^1H de **S7** com ampliações (CDCl₃, 600 MHz).

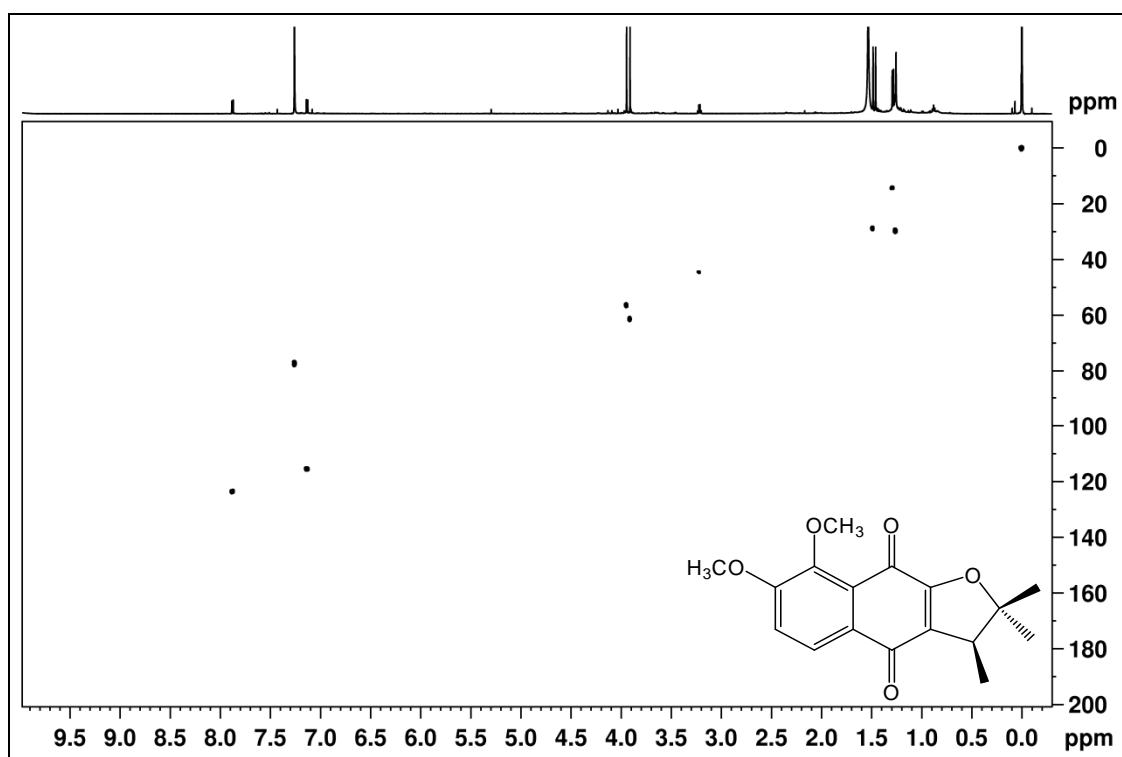


FIGURA 50. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S7** (CDCl₃, 600 MHz).

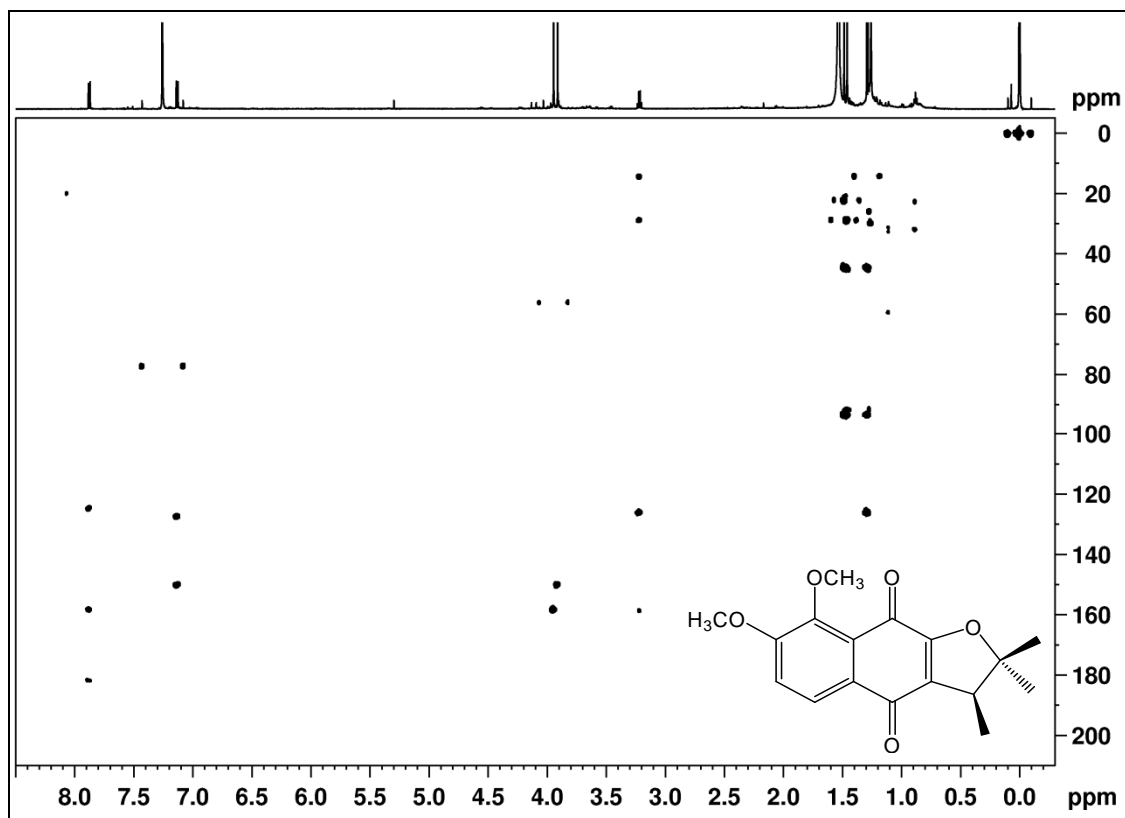


FIGURA 51. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S7** (CDCl_3 , 600 MHz).

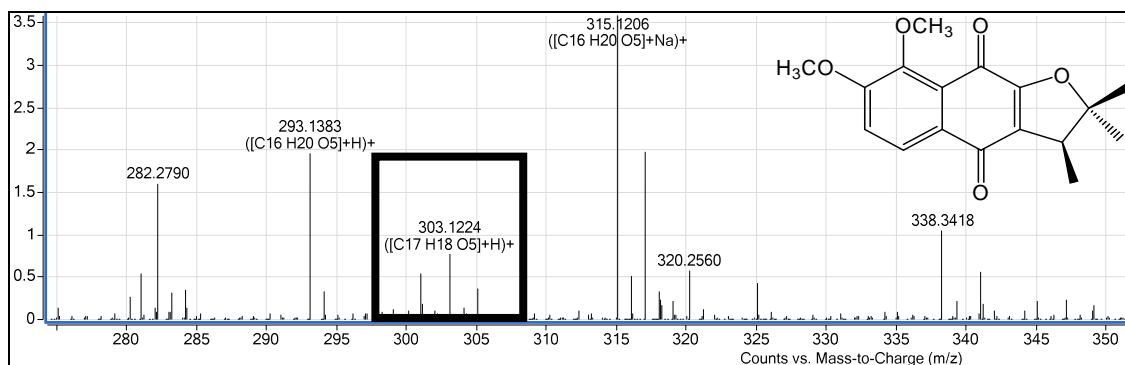


FIGURA 52. Espectro de massas de alta resolução no modo positivo $[(\text{M}+\text{H})^+]$ de **S7**.

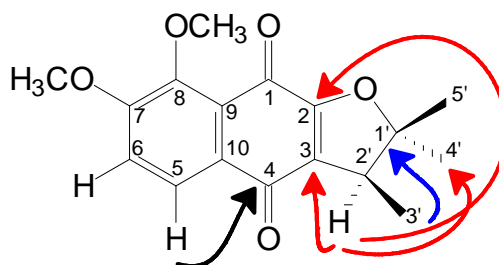
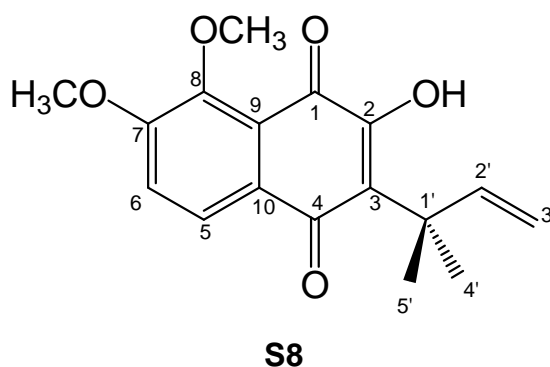


FIGURA 53. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S7**.

A substância **S8** apresentou no seu espectro de massas de alta resolução (Figura 57; página 123), um pico em m/z 303,1226 ($[M+H]^+$), que corresponde a fórmula molecular $C_{17}H_{19}O_5$. O seu espectro de RMN de 1H (Figura 54; página 122) apresentou sinais de dois hidrogênios aromáticos em δ 7,87 (H-5) e 7,20 (H-6) como dupletos ($J=8,5$ Hz), indicando uma relação *orto*. Um grupo 3,3-dimetilalila foi definido pela presença de três sinais atribuídos aos hidrogênios olefínicos em δ 6,28 (*dd*, 17,4 e 10,5 Hz - H-2'), 4,99 (*dd*, 17,4 e 1,0 Hz - H-3') e 4,94 (*dd*, 10,5 e 1,0 Hz - H-3') e sinais de hidrogênios referentes a duas metilas equivalentes (δ 1,55, *s* - H-4' e H-5'). Também foram observados sinais atribuídos aos hidrogênios de dois grupos metoxila em δ 3,95 e 3,94 e de uma hidroxila em δ 8,09. Pelo mapa de correlação direta 1H - ^{13}C (Figura 55; página 122) pode-se observar que o hidrogênio em δ 6,28 (H-2') está ligado ao carbono em δ 148,1 (C-2'), os hidrogênios em δ 4,99 e 4,94 (H-3') estão ligados ao carbono em δ 109,4 (C-3') e os grupos metila estão ligados aos carbonos em δ 28,2 (C-4' e C-5'). De acordo com o mapa de correlação 1H - ^{13}C a longa distância (Figura 56; página 123) o hidrogênio em δ 7,87 (H-5) apresenta correlações com os carbonos em δ 121,7 (C-9), 157,1 (C-7) e 183,9 (C-4) enquanto que, o hidrogênio em δ 4,99 (H-3') faz correlações com os carbonos em δ 40,7 (C-1') e 148,1 (C-2'). Além disto, pode-se observar que os hidrogênios em δ 1,55 (H-4' e H-5') mostram correlação com os carbonos em δ 40,7 (C-1'), 126,9 (C-3) e 148,1 (C-2') (Tabela 22; página 124; Figura 58; página 123). A comparação destes e dos demais dados com a literatura mostrou que **S8** devia ser um derivado da naftoquinona conhecida como dunniol (KHAMBAY *et al.*, 1999) que já foi isolada de *Sinningia allagophylla* (RIVA *et al.*, 2012). Portanto a estrutura de **S8** foi determinada 7,8-dimetoxidunniol.



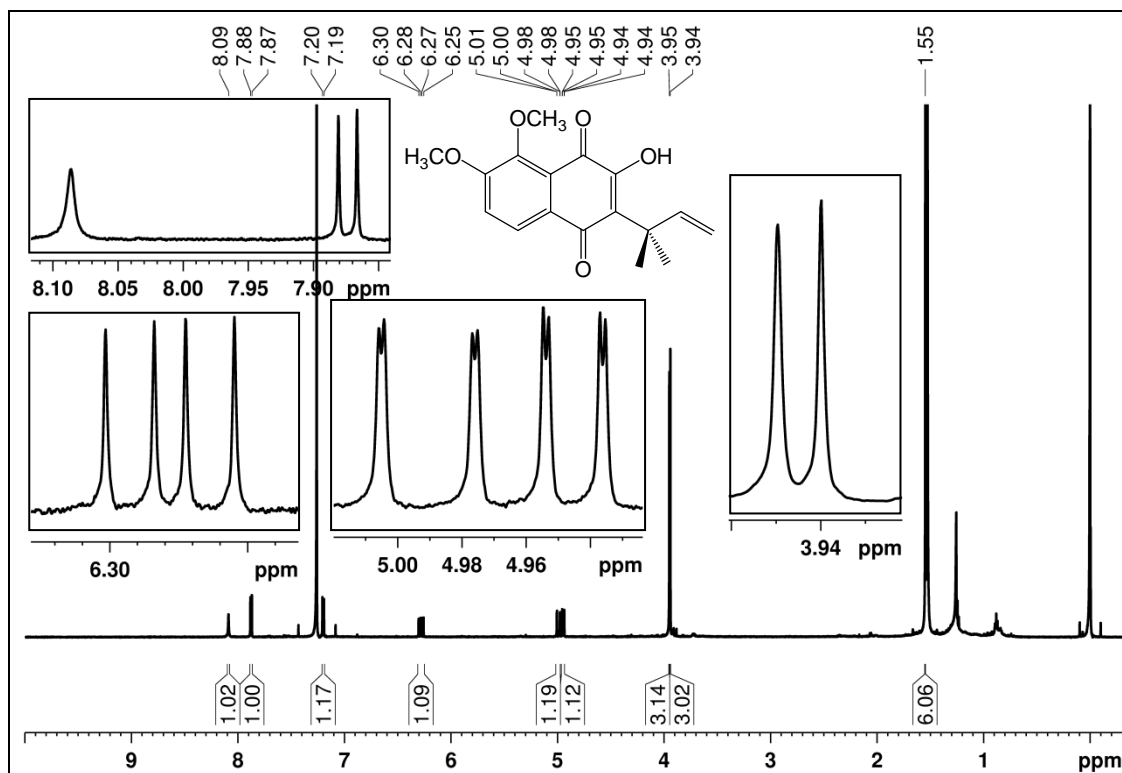


FIGURA 54. Espectro de RMN de ¹H de **S8** com ampliações (CDCl₃, 600 MHz).

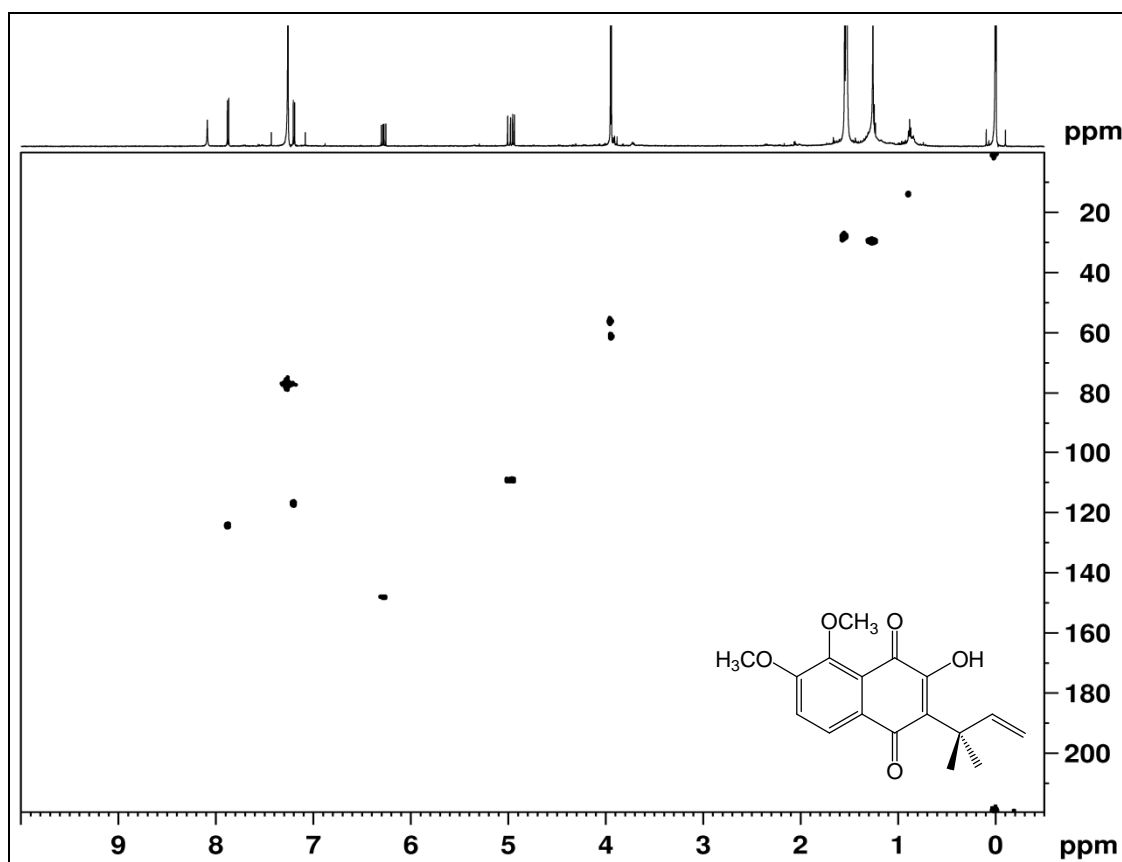


FIGURA 55. Mapa de correlação direta ¹H-¹³C de **S8** (CDCl₃, 600 MHz).

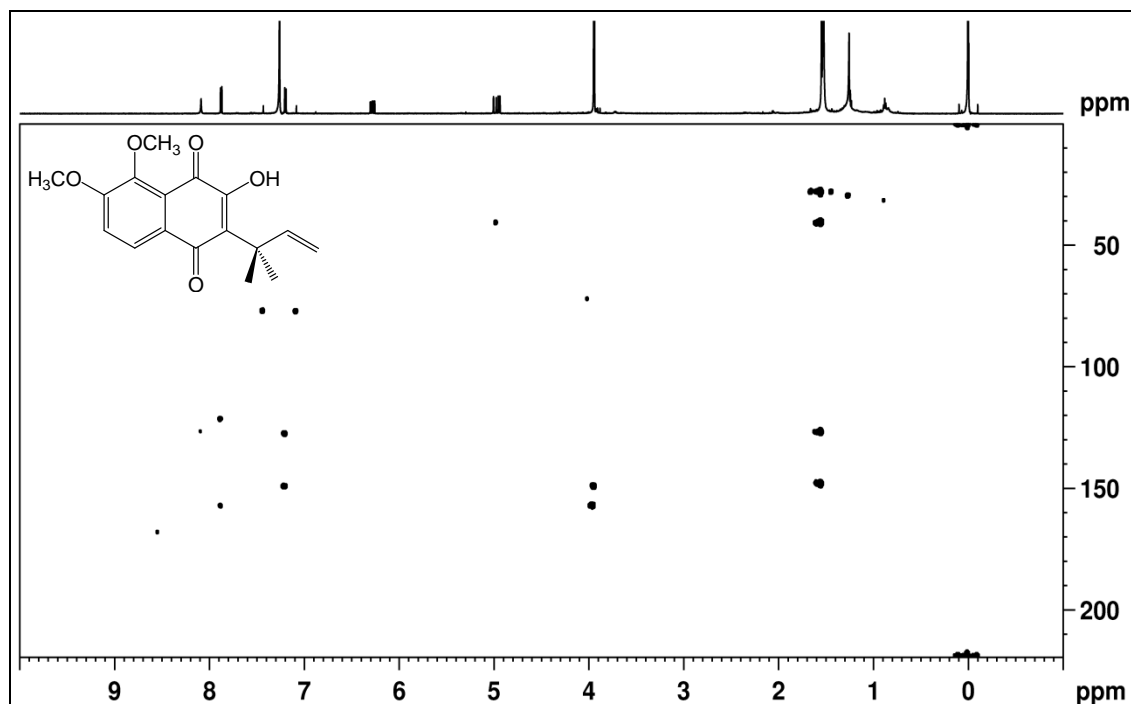


FIGURA 56. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S8** (CDCl_3 , 600 MHz).

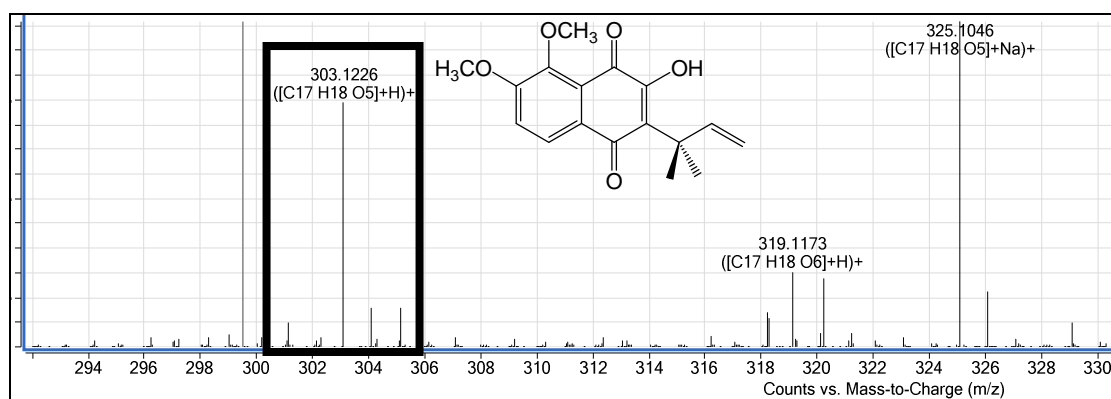


FIGURA 57. Espectro de massas de alta resolução no modo positivo ($[\text{M}+\text{H}]^+$) de **S8**.

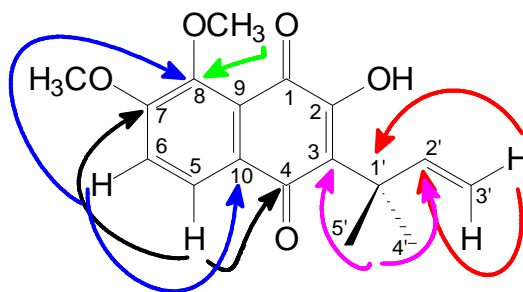


FIGURA 58. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S8**.

TABELA 22. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DAS SUBSTÂNCIAS **S7** E **S8** (CDCl_3 , 600 MHz).

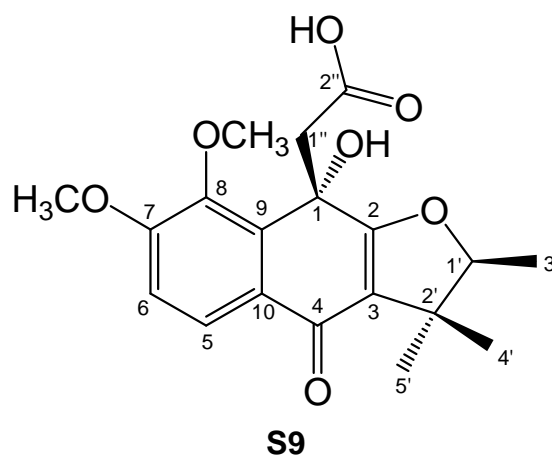
Posição	S7			S8		
	δ_{H} ; mult. (J em Hz)	δ_{C}	$^{\text{LD}}J_{\text{H,C}}$	δ_{H} ; mult. (J em Hz)	δ_{C}	$^{\text{LD}}J_{\text{H,C}}$
1	-	N.O.	-	-	N.O.	-
2	-	158,6	-	-	N.O.	-
3	-	125,9	-	-	126,9	-
4	-	181,8	-	-	183,9	-
5	7,88 d (8,7)	123,6	4,7,9	7,87 d (8,5)	124,5	4,7,9
6	7,13 d (8,7)	115,4	8,10	7,20 d (8,5)	117,1	7,8,10
7	-	158,3	-	-	157,1	-
8	-	150,1	-	-	149,2	-
9	-	124,8	-	-	121,7	-
10	-	127,4	-	-	127,9	-
1'	-	93,4	-	-	40,7	-
2'	3,22 q (7,2)	44,5	2,3,3',4'	6,28 dd (17,4:10,5)	148,1	N.O.
3'	1,29 d (7,2)	14,3	3,1',2'	4,99 dd (17,4:1,0)	109,4	1', 2'
				4,94 dd (10,5:1,0)		
4'	1,48 s	28,6	1',2',5'	1,55 s	28,2	3,1',2',5'
5'	1,46 s	22,2	1',2',4'	1,55 s	28,2	3,1',2',4'
7-OCH ₃	3,94 s	56,3	7	3,95 s	56,1	7
8-OCH ₃	3,91 s	61,3	8	3,94 s	61,0	8
2-OH	-	-	-	8,09 s	-	3

N. O. - Não observado.

4.2.HIDRONAFTOQUINONA - **S9**

O espectro de RMN de ^1H da substância **S9** (Figura 59; página 126) foi semelhante ao das dunnionas. Porém mostrava um simpleto adicional em δ 4,04 (H-1'') integrando para dois hidrogênios, além de diferenças no deslocamento químico dos hidrogênios do anel 2,3-diidro-2,3,3-trimetilfurano, que estavam desprotegidos em relação ao das dunnionas anteriores. O mapa de correlação ^1H - ^{13}C a uma ligação (Figura 60; página 126) mostrou que os hidrogênios em δ 4,04 (H-1'') estão ligados ao carbono em δ 35,6 (C-1''), e no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa

distância (Figura 61; página 127) apresentaram correlações com os carbonos em δ 157,3 (C-2) e 168,1 (C-2''). Pode-se observar ainda a presença de sinais referentes a dois grupos metoxila em δ 4,02 que fazem correlação com os carbonos em δ 142,9 (C-7) e 151,6 (C-8) (Tabela 23; página 128; Figura 63; página 128). De acordo com estes dados e outros observados nos mapas de correlação, foi proposta a estrutura de **S9** como sendo um derivado de **S3**, que sofreu adição no grupo carbonila em C-1. Esta substância é inédita na literatura e foi denominada 1-hidroxi-1-metilenocarboxi-7,8-dimetoxi- α -dunniona. O espectro de massas, no modo positivo (Figura 62; página 127), mostrou um pico em m/z 363,13, compatível com fórmula molecular de **S9** (C₁₉H₂₃O₇). **S9** apresenta dois estereocentros (C-1 e C-2'), mas a configuração relativa entre eles não pode ser estabelecida.



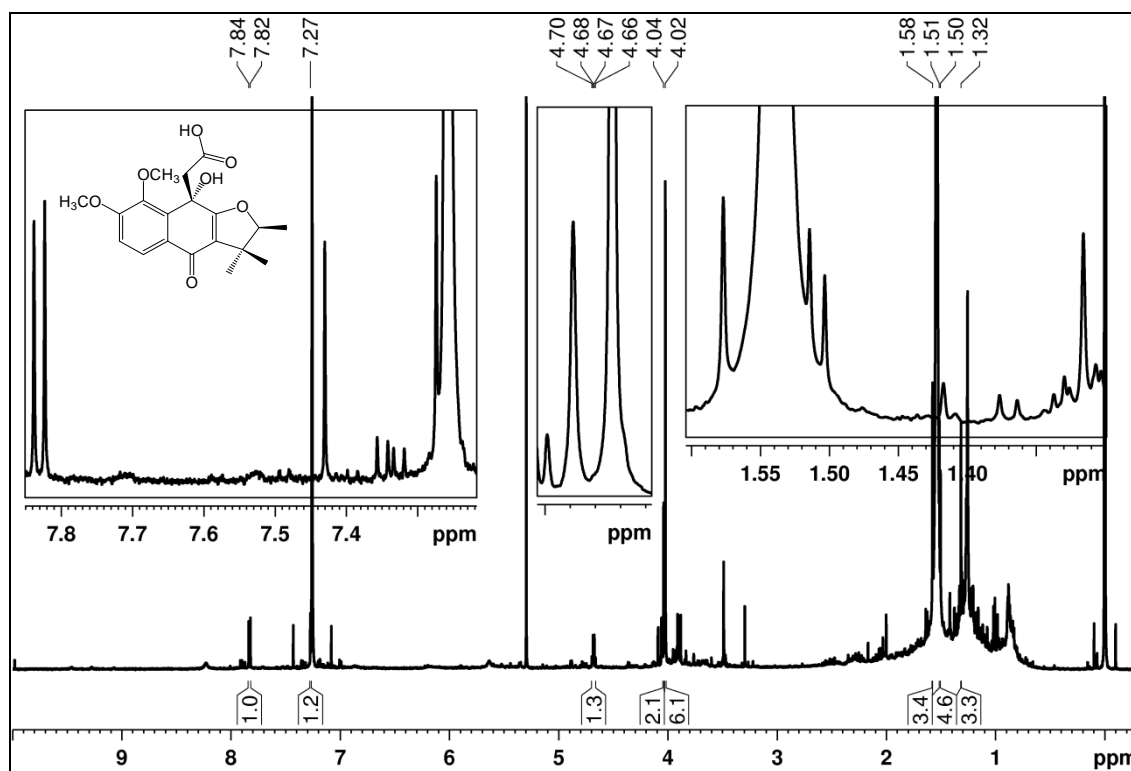


FIGURA 59. Espectro de RMN de ^1H de **S9** com ampliações (CDCl₃, 600 MHz).

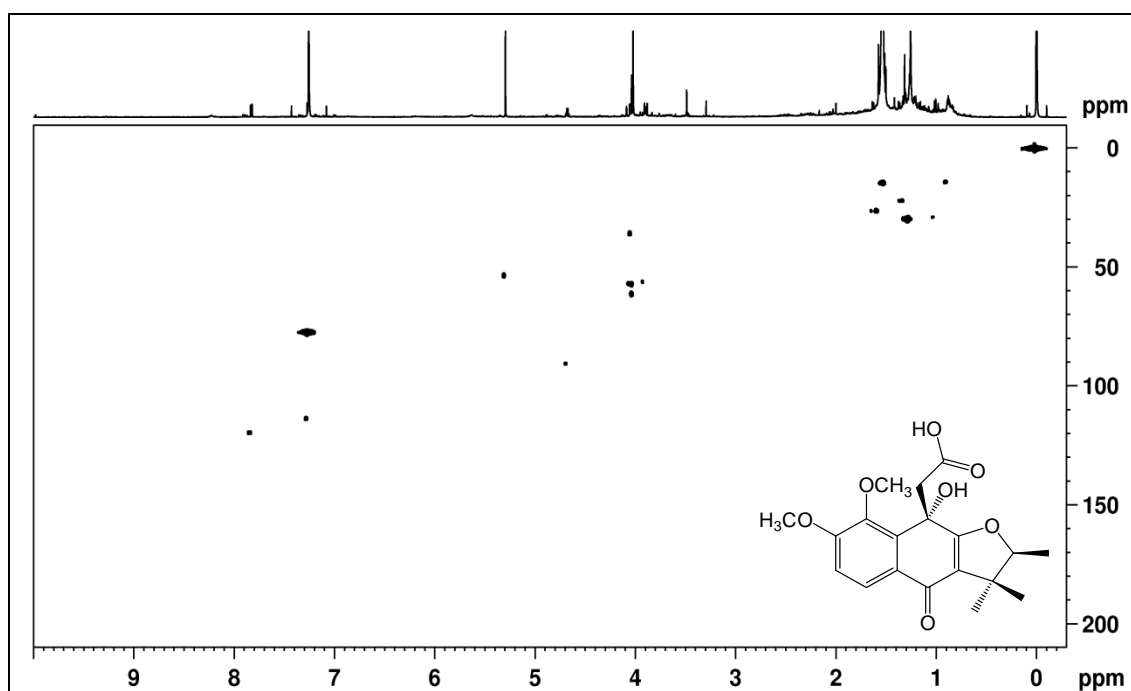


FIGURA 60. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S9** (CDCl₃, 600 MHz).

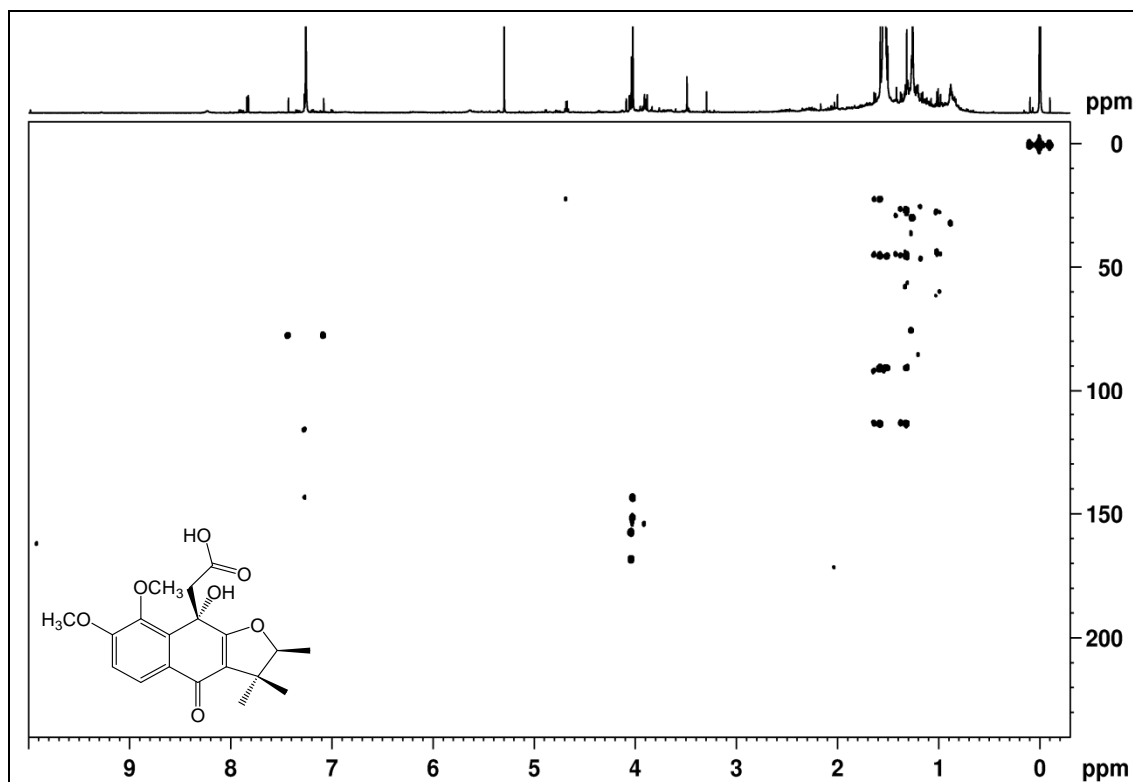


FIGURA 61. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S9** (CDCl_3 , 600 MHz).

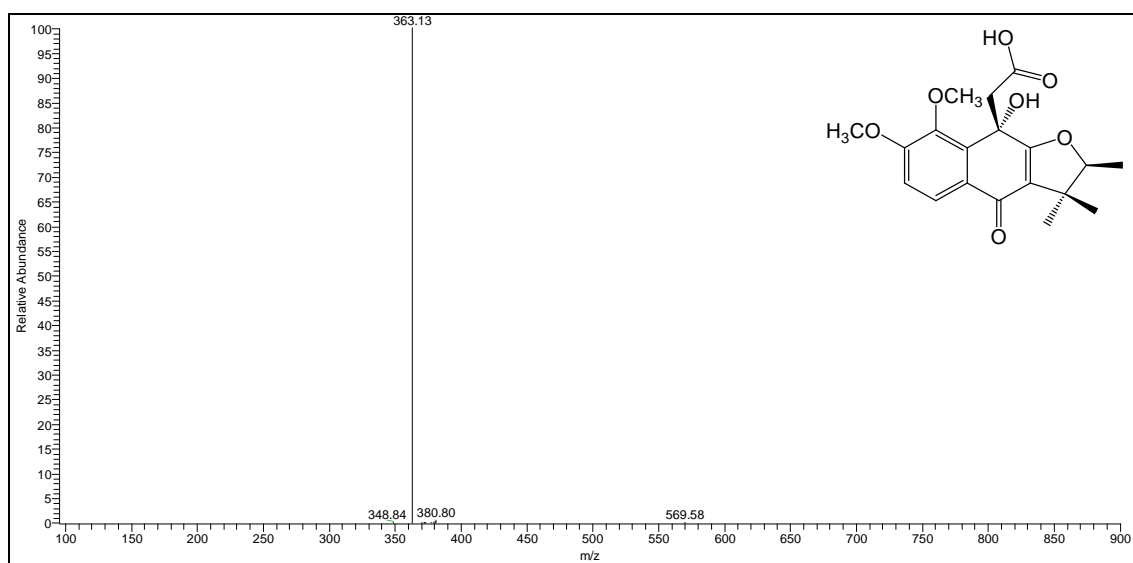


FIGURA 62. Espectro de massas de baixa resolução no modo positivo ($[\text{M}+\text{H}]^+$) de **S9**.

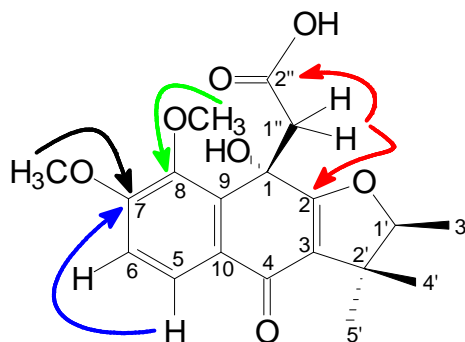


FIGURA 63. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S9**.

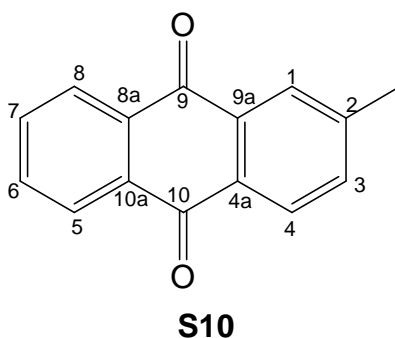
TABELA 23. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DA SUBSTÂNCIA **S9** (CDCl_3 , 600 MHz).

Posição	δ_{H} ; mult. (J em Hz)	δ_{C}	$^{\text{LD}}J_{\text{H,C}}$
1	-	N.O.	-
2	-	157,3	-
3	-	113,4	-
4	-	181,6	-
5	7,27 <i>d</i> (9,0)	113,5	4,7,9
6	7,83 <i>d</i> (9,0)	119,5	N.O.
7	-	142,9	-
8	-	151,6	-
9	-	115,8	-
10	-	N.O.	-
1'	4,68 <i>q</i> (6,7)	90,4	4'
2'	-	45,0	-
3'	1,51 <i>d</i> (6,7)	14,5	1',2'
4'	1,32 <i>s</i>	21,9	3,1',2',5'
5'	1,58 <i>s</i>	26,3	3,1',2',4'
7-OCH ₃	4,02 <i>s</i>	57,8	7
8-OCH ₃	4,02 <i>s</i>	61,2	8
1''	4,04 <i>s</i>	35,6	2,2''
2''	-	168,1	-

N.O. – Não observado.

4.3. ANTRAQUINONA - IDENTIFICAÇÃO DE **S10**

A substância **S10** apresentou no seu espectro de RMN de ^1H (Figura 64; página 130) sinais na região de hidrogênios aromáticos entre δ 8,32 a 7,59, relativos a sete hidrogênios, em δ 8,31 (*m*, 2H, H-5 e H-8), 8,22 (*d*, $J = 7,9$ Hz, 1H, H-4), 8,11 (*dq*, $J = 1,8$ e $0,6$ Hz, 1H, H-1), 7,80 (*m*, 2H, H-6 e H-7), 7,61 (*ddd*, $J = 7,9$, $1,8$ e $0,7$ Hz, 1H, H-3). Além desses, pôde-se observar um sinal em δ 2,55 como um simpleto que integra para três hidrogênios, característico de grupo metila ligado a anel aromático. O mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (Figura 65; página 130) mostra que os hidrogênios em δ 8,31 (H-5 e H-8) estão ligados aos carbonos em δ 126,6 (C-5 e C-8), o hidrogênio em δ 8,22 (H-4) está ligado ao carbono em δ 126,9 (C-4), o hidrogênio em δ 8,11 (H-1) está ligado ao carbono em δ 127,5 (C-1), os hidrogênios em δ 7,80 (H-6 e H-7) estão ligados aos carbonos em δ 134,7 (C-6 e C-7), enquanto que os hidrogênios em δ 2,55 estão ligados ao carbono em δ 21,8. Pelo mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (Figura 66; página 131) pode-se observar que os hidrogênios em δ 8,31 (H-5 e H-8) fazem correlação com os carbonos em δ 133,4 (C-8a), 134,7 (C-6 e C-7), 183,0 (C-10) e 183,7 (C-9), o hidrogênio em δ 8,22 (H-4) faz correlação com os carbonos em δ 133,4, 145,4 (C-2), 183,0, enquanto que o hidrogênio em δ 8,11 (H-1) faz correlação com os carbonos em δ 21,8 (C-2-CH₃), 131,2 (C-4a), 135,1 (C-3) e 183,7 (C-9) e os hidrogênios em δ 2,55 fazem correlação com os carbonos em δ 127,5 (C-1), 135,1 e 145,5 (Tabela 24; página 131; Figura 67; página 132). Com esses dados a substância **S10** pode ser identificada como a antraquinona tectoquinona (MOREIRA *et al.*, 2006), que já foi isolada de *S. aggregata* (VERDAN, 2011; VERDAN *et al.*, 2015) e *S. warmingii* (VERDAN *et al.*, 2014). Essa foi a única antraquinona identificada em *S. canescens*.



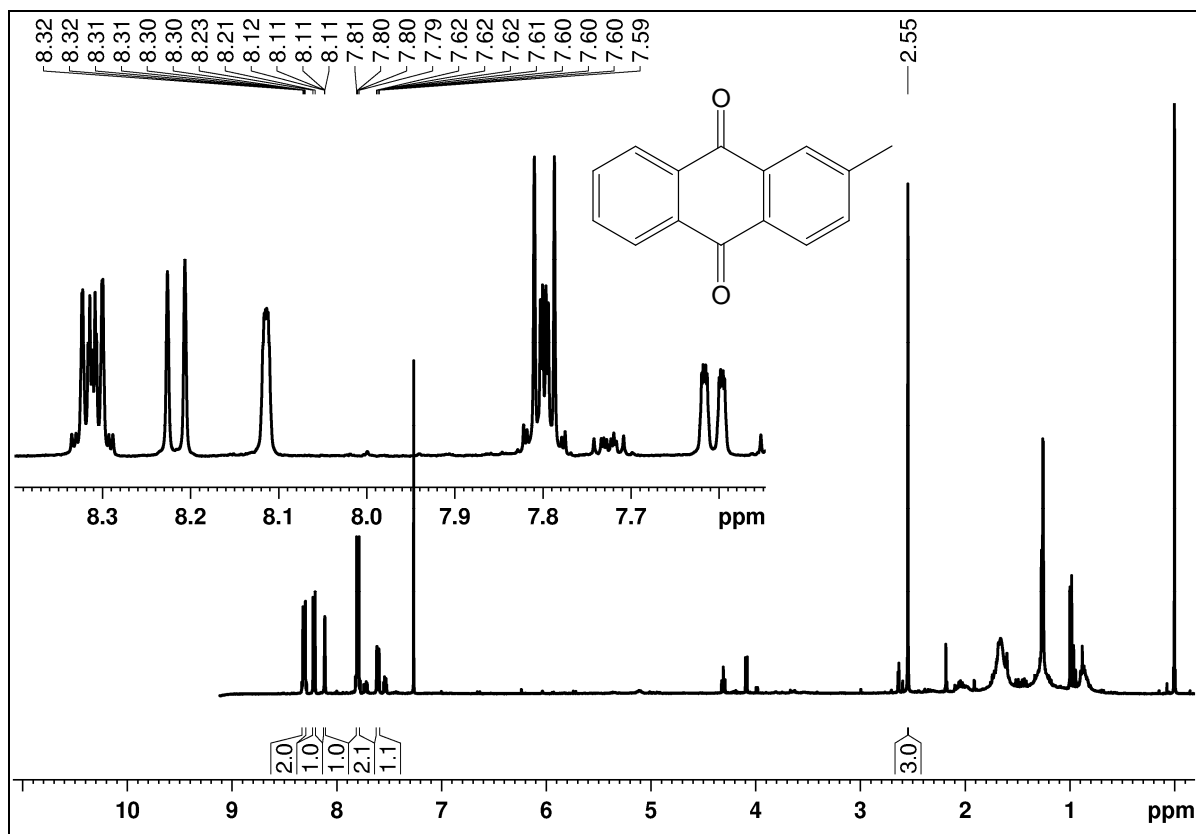


FIGURA 64. Espectros de RMN de ^1H de **S10** com ampliação (CDCl_3 , 400 MHz).

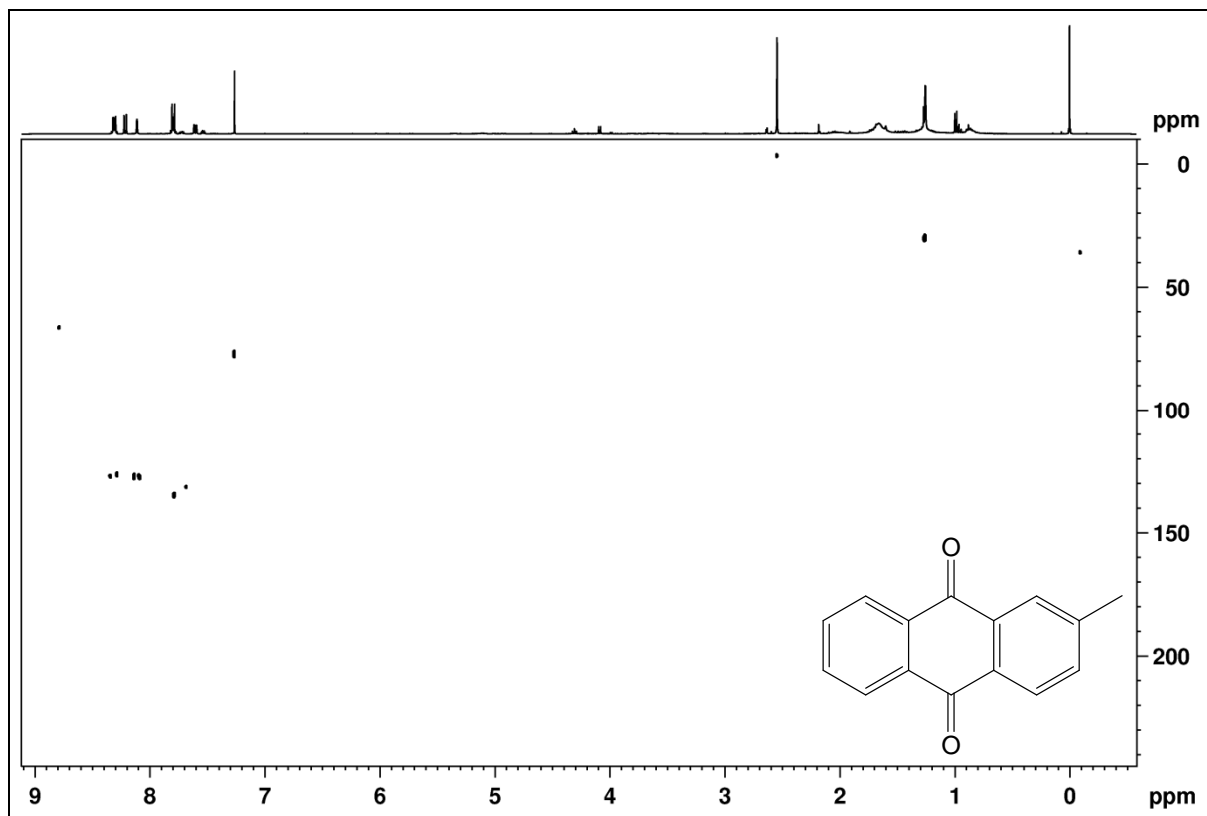


FIGURA 65. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S10** (CDCl_3 , 400 MHz).

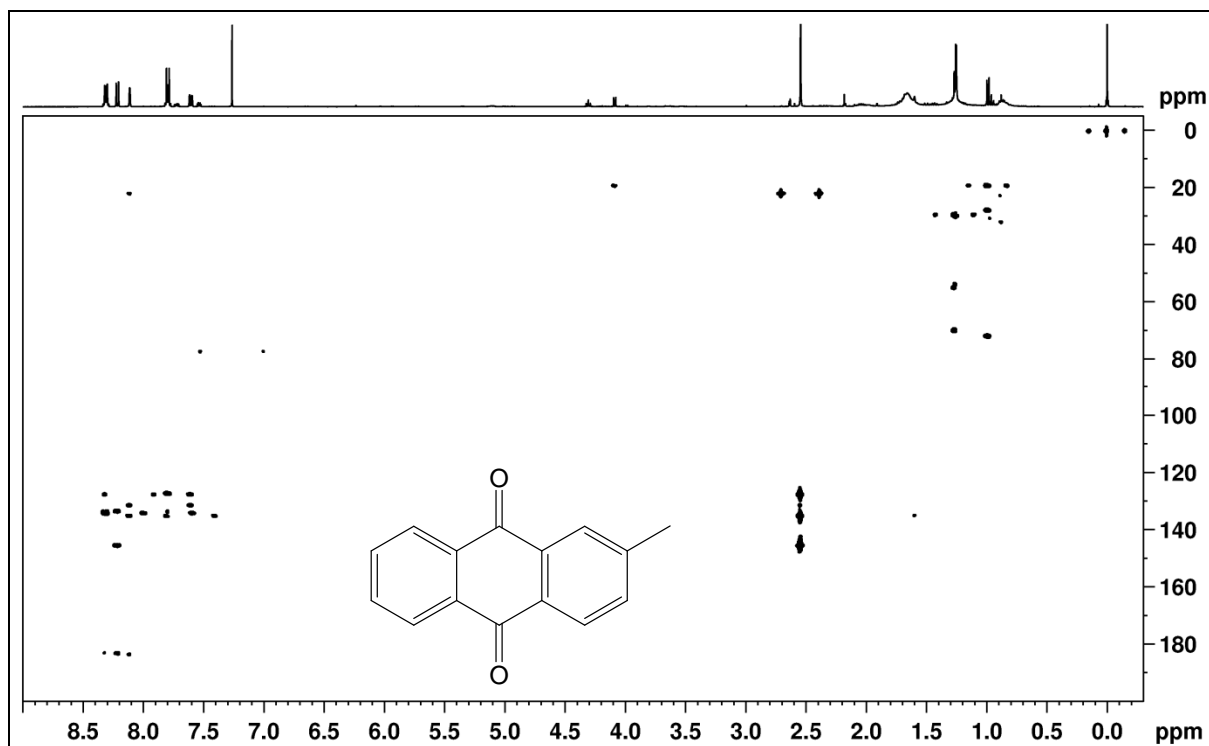


FIGURA 66. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S10** (CDCl_3 , 400 MHz).

TABELA 24. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DA SUBSTÂNCIA **S10** (CDCl_3 , 400 MHz).

Posição	δ_{H} ; mult. (J em Hz)	δ_{C}	$^{\text{LD}}J_{\text{H,C}}$
1	8,11 <i>dq</i> (1,8:0,6)	127,5	3, 4a, 9, 2- CH_3
2	-	145,5	-
3	7,61 <i>ddd</i> (7,9:1,8:0,7)	135,1	1, 2, 4a, 2- CH_3
4	8,22 <i>d</i> (7,9)	126,9	2, 9a, 10
4a	-	131,2	-
5	8,31 <i>m</i>	126,6	7, 8a, 10
6	7,80 <i>m</i>	134,7	8, 10a
7	7,80 <i>m</i>	134,7	5, 8a
8	8,31 <i>m</i>	126,6	6, 9, 10a
8a	-	133,4	-
9	-	183,7	-
9a	-	133,4	-
10	-	183,0	-
10a	-	133,8	-
2- CH_3	2,55 <i>s</i>	21,8	1, 2, 3

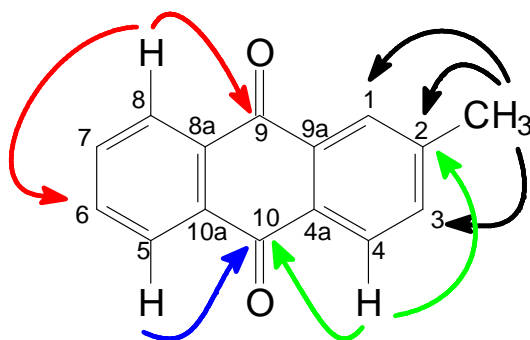


FIGURA 67. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S10**.

4.3. BENZOFURANOS - DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE **S11** E **S12**

A substância **S11** apresentou um pico com relação m/z 285,0759 ($[\text{M}+\text{H}]^+$) no espectro de massas de alta resolução (Figura 71; página 135), correspondente a fórmula molecular $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{O}_5$. Seu espectro de RMN de ^1H (Figura 68; página 133) apresentou três simpletos em δ 10,13 (1H), 9,95 (1H) e 3,84 (3H, OMe). Também foram observados sinais de seis hidrogênios na região de aromáticos, sendo dois mais protegidos (δ 6,46 (H-6) e 6,59 (H-8), d , $J=2,0$ Hz), e quatro mais desprotegidos (δ 7,01-7,70), formando um sistema de *spin* típico de um anel aromático 1,4-dissubstituído. O experimento de correlação direta ^1H - ^{13}C (Figura 69; página 134) mostrou que o hidrogênio em δ 9,95 (H-4) está ligado a um carbono em δ 188,5 (C-4), indicando um grupo aldeído, enquanto que o hidrogênio em δ 10,13 (H-5) não tem correlação com nenhum carbono, devendo ser de um grupo hidroxila. A análise do mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (Figura 70; página 134) levou à estrutura de **S11**. O anel A foi definido pelas correlações entre o grupo metoxila e o carbono em δ 161,2; o hidrogênio em δ 10,13 (OH, C-5) e os carbonos em δ 99,0 (C-6) e 152,5 (C-5); e o hidrogênio em δ 6,59 (H-8) com os carbonos em δ 99,0 (C-6), 107,2 (C-10), 156,3 (C-9) e 161,2 (C-7). A posição do anel B foi dada pelas correlações dos hidrogênios em δ 7,70 (H-2' e H-6') com os carbonos em δ 158,5 (C-4') e 165,8 (C-2). O grupo aldeído deve estar em C-3, uma vez que o hidrogênio em δ 9,95 (H-4) mostra correlação com os carbonos em δ 107,2 (C-10) e 118,4 (C-3) (Tabela 25; página 138; Figura 72; página 135). Assim foi possível determinar a

estrutura de **S11**, uma substância inédita denominada 2-(4'-hidroxifenil)-5-hidroxi-7-metoxi-3-benzofuranal.

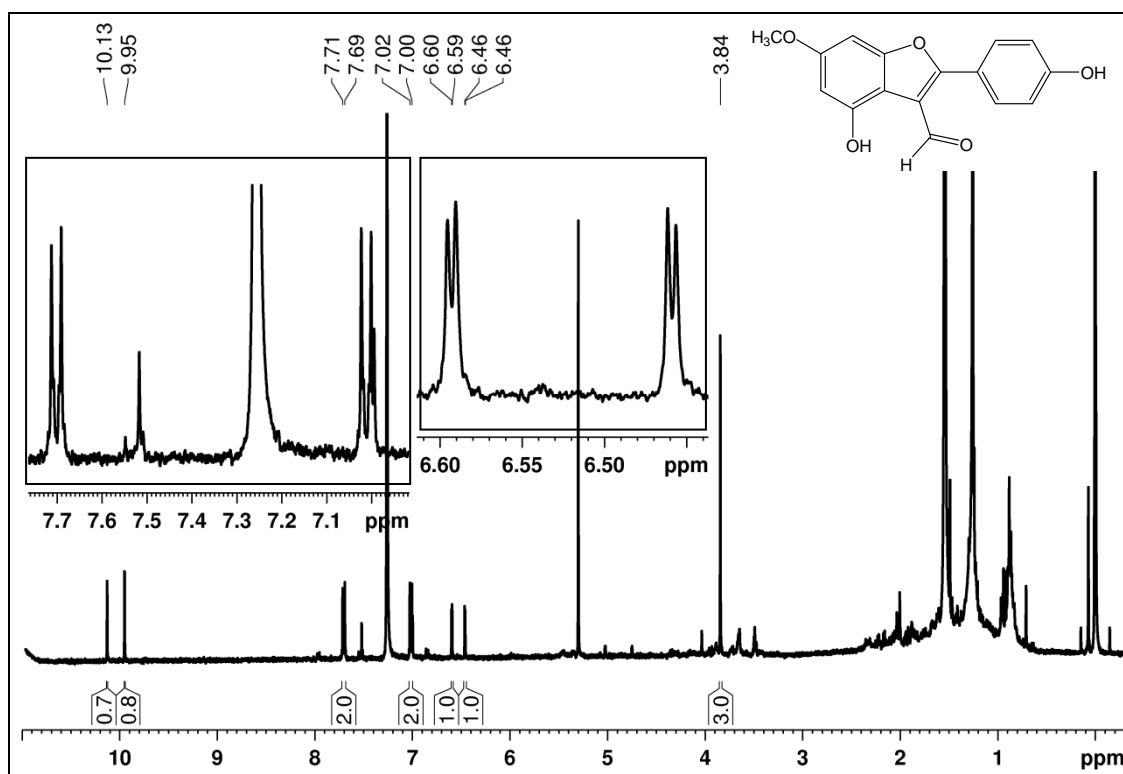
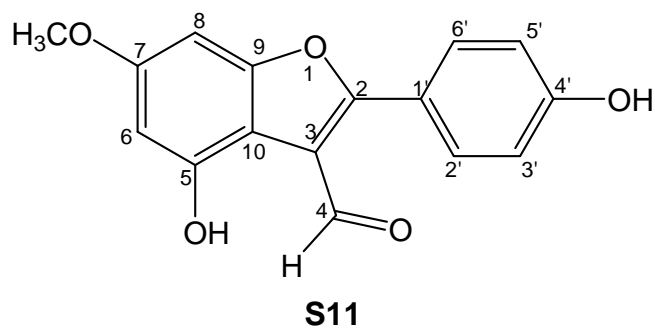


FIGURA 68. Espectro de RMN de ^1H de **S11** com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz).

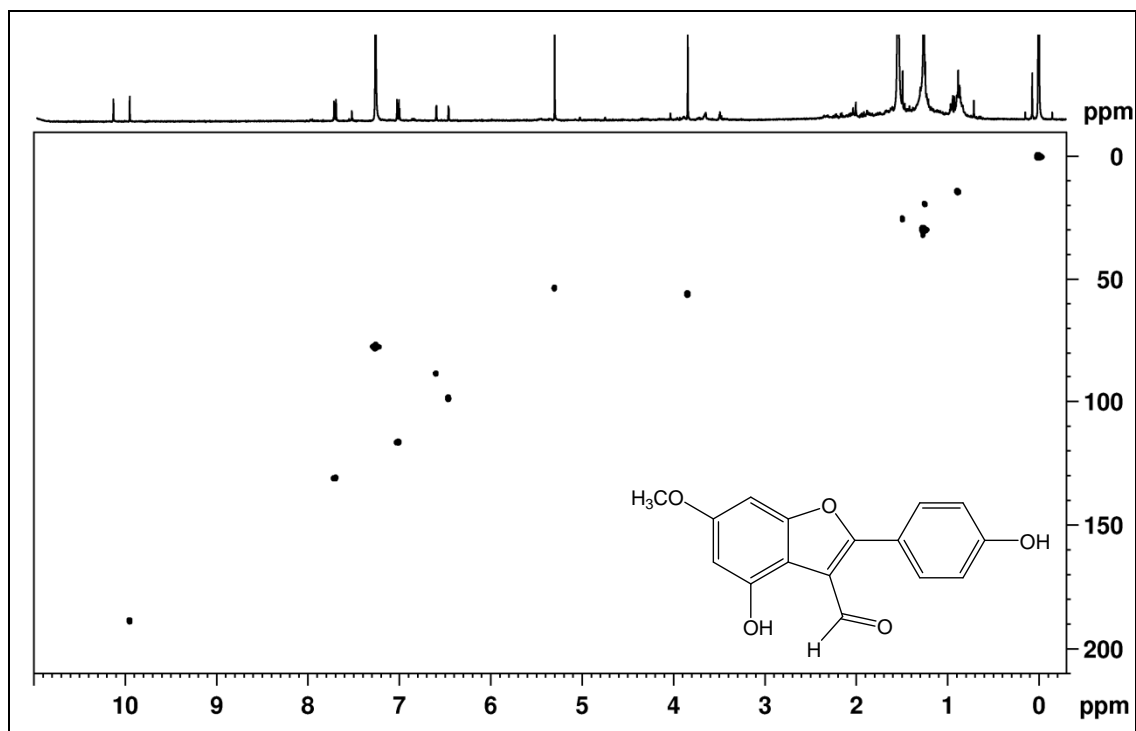


FIGURA 69. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S11** (CDCl_3 , 400 MHz).

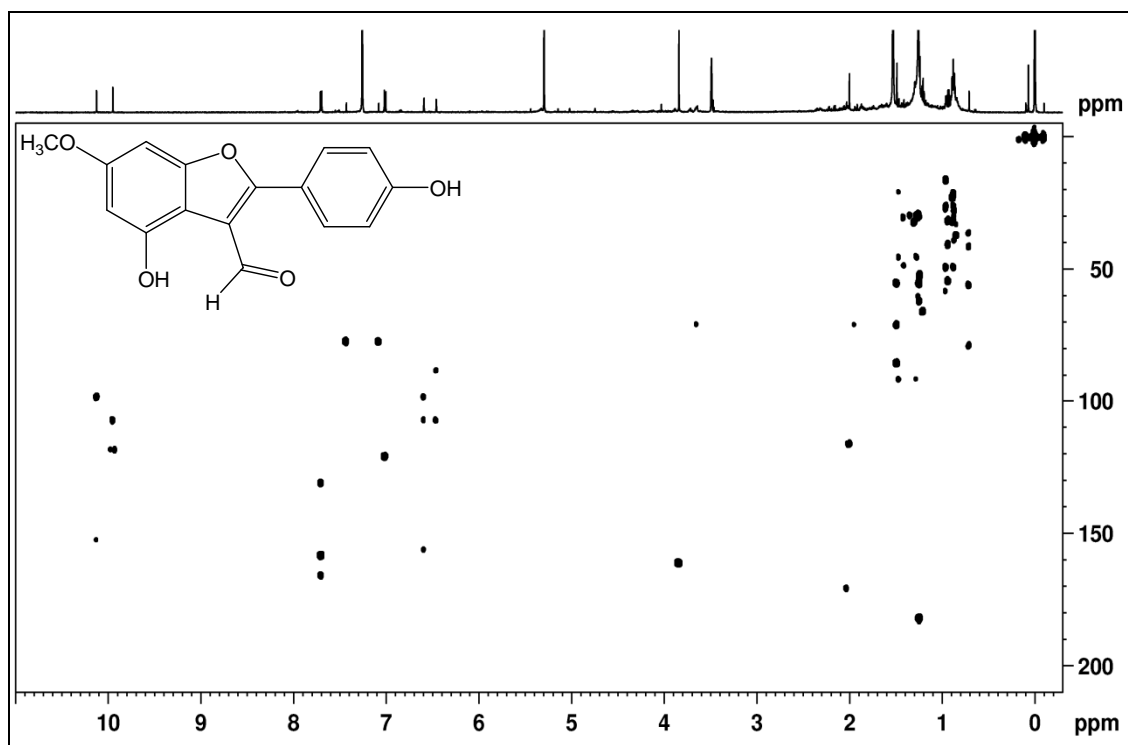


FIGURA 70. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S11** (CDCl_3 , 600 MHz).

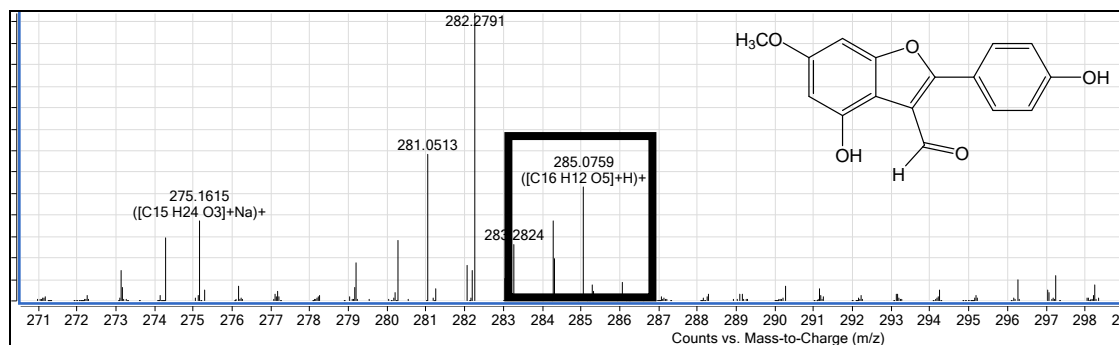


FIGURA 71. Espectro de massas de alta resolução no modo positivo $([M+H]^+)$ de **S11**.

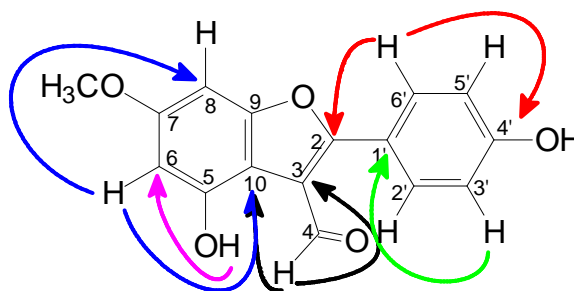


FIGURA 72. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S11**.

A substância **S12** apresentou um pico com m/z 305,1022 que corresponde a uma fórmula molecular $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_5\text{Li}$ (Figura 76; página 138). O espectro de RMN de ^1H de **S12** (Figura 73; página 136) difere daquele de **S11** pelo aparecimento de um sinal adicional de metoxila em δ 3,91 (s). Pelo mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (Figura 74; página 137), não foi possível identificar a correlação do hidrogênio em δ 9,95 (H-4), mas foram observadas as correlações dos hidrogênios na região de aromáticos e das metoxilas. Com o mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (Figura 75; página 137) pôde-se determinar a posição da metoxila adicional como sendo em C-4', pois esta apresentou correlação com o carbono em δ 162,3, da mesma forma que os hidrogênios em δ 7,75 (H-6') (Tabela 25; página 138; Figura 77; página 139). Portanto, **S12** que também é inédita, foi identificada como 2-(4'-metoxifenil)-5-hidroxi-7-metoxi-3-benzofuranal.

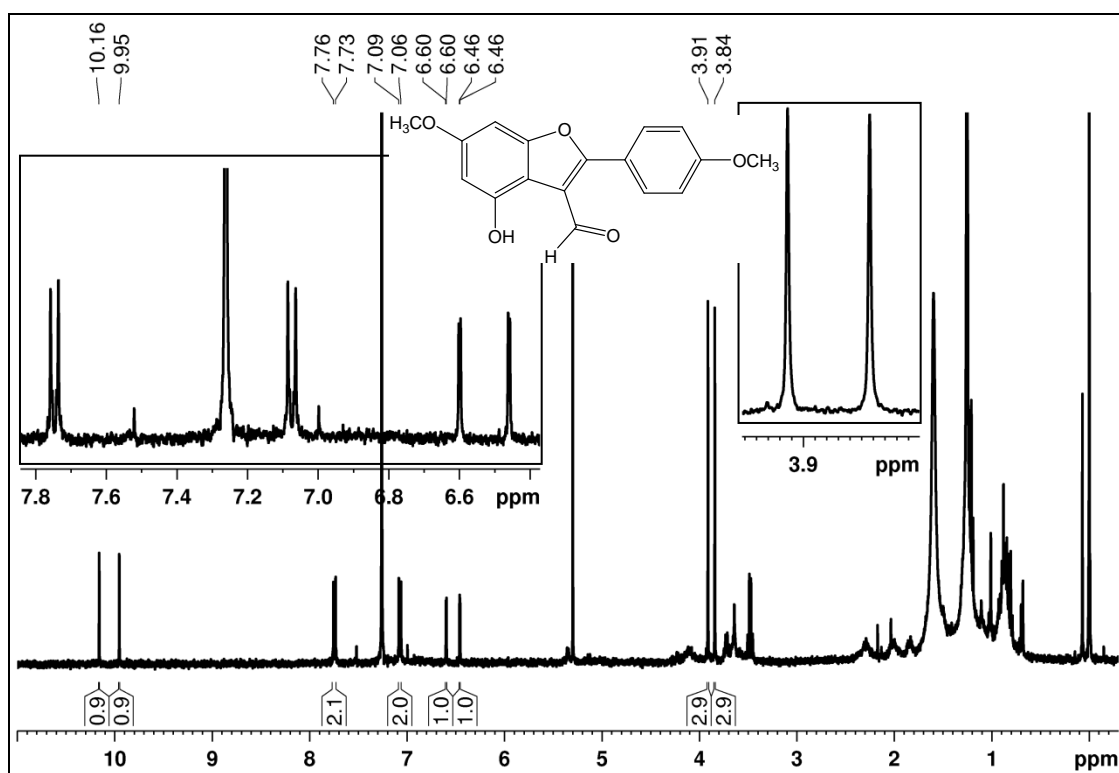
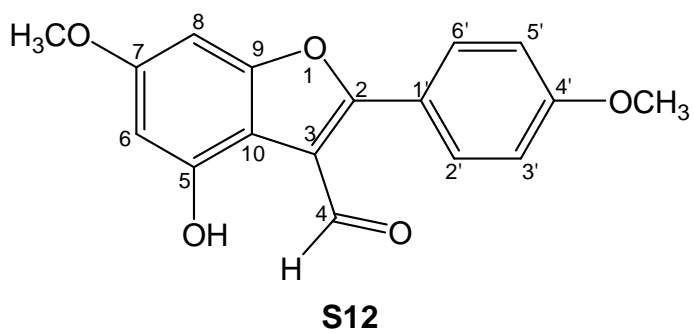


FIGURA 73. Espectro de RMN de ^1H de **S12** com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz).

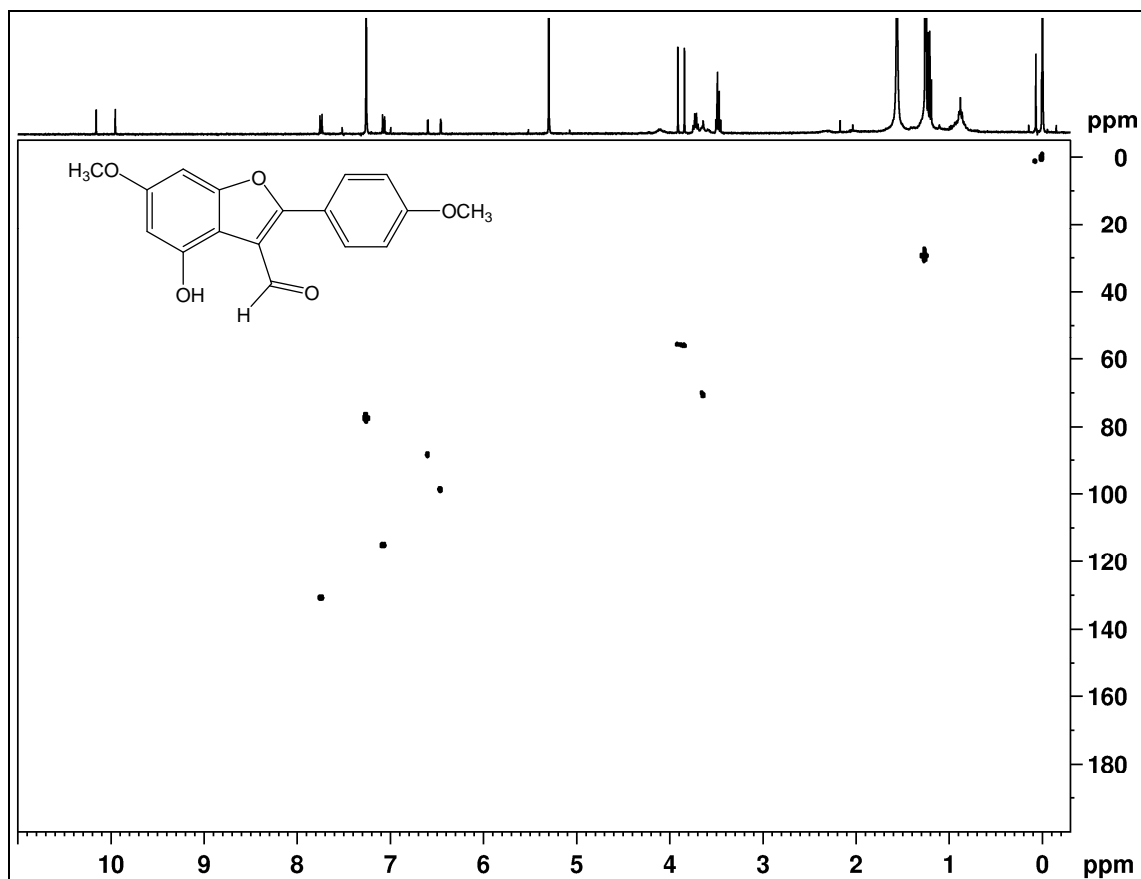


FIGURA 74. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S12** (CDCl_3 , 400 MHz).

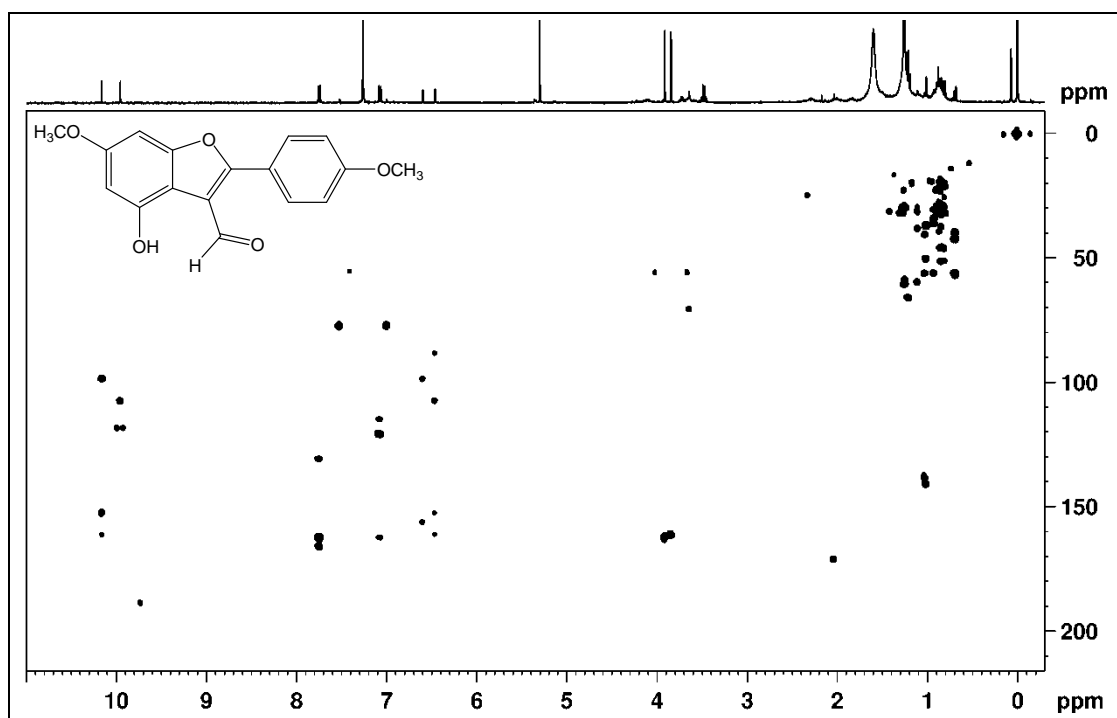


FIGURA 75. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S12** (CDCl_3 , 400 MHz).

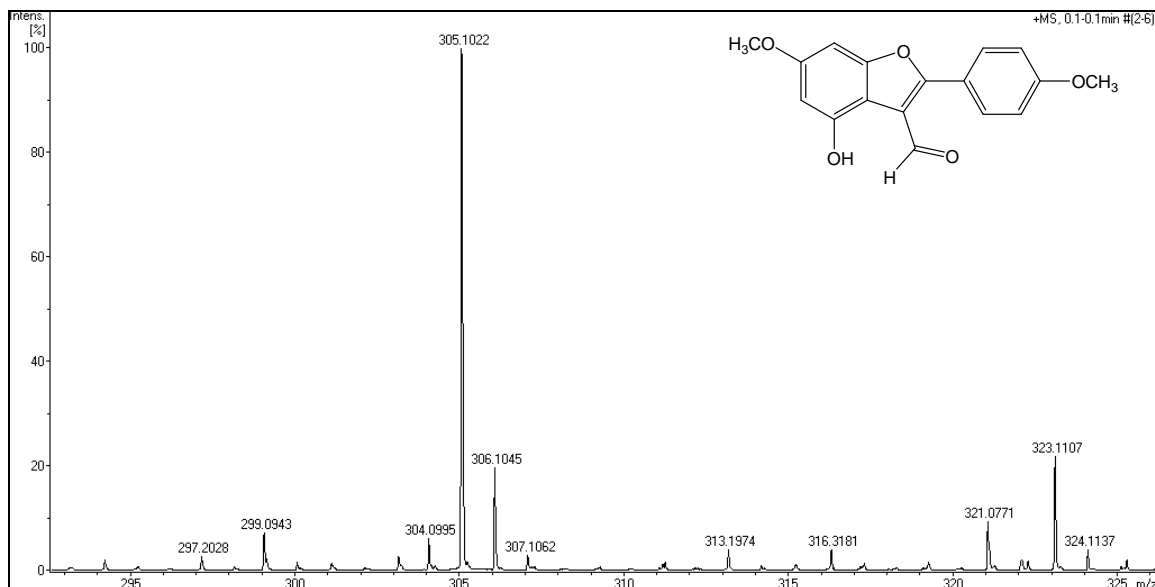


FIGURA 76. Espectro de massas de alta resolução no modo positivo ($[M+Li]^+$) de **S12**.

TABELA 25. DADOS DE RMN DE 1H , $^{13}C\{^1H\}$ E HMBC DE **S11** E **S12** ($CDCl_3$, 400 MHz).

S11				S12		
Posição	δ_H ; mult. (J em Hz)	δ_C	$^{LD} J_{H,C}$	δ_H ; mult. (J em Hz)	δ_C	$^{LD} J_{H,C}$
2	-	165,8	-	-	166,0	-
3	-	118,4	-	-	117,9	-
4	9,95 s	188,5	3,10	9,95s	N.O.	3,10
5	-	152,5	-	-	152,2	-
6	6,46 d (2,0)	99,0	5,8,10	6,46 d (2,0)	98,5	8,10
7	-	161,2	-	-	161,3	-
8	6,59 d (2,0)	88,3	6,7,9,10	6,60 d (2,0)	88,2	6,9,10
9	-	156,3	-	-	156,1	-
10	-	107,2	-	-	107,4	-
1'	-	121,1	-	-	120,8	-
2' e 6'	7,70 d (8,7)	130,9	2,2',4',6'	7,75 d (8,9)	130,5	2,2',4',6'
3' e 5'	7,01 d (8,7)	116,4	1',3',4',5'	7,07 d (8,9)	114,8	1',3',5'
4'	-	158,5	-	-	162,3	-
7-OCH ₃	3,84 s	55,8	7	3,84 s	55,9	7
4'-OCH ₃	-	-	-	3,91 s	55,5	4'
5-OH	10,13 s	-	5, 6	10,16 s	-	

N.O. - Não observado.

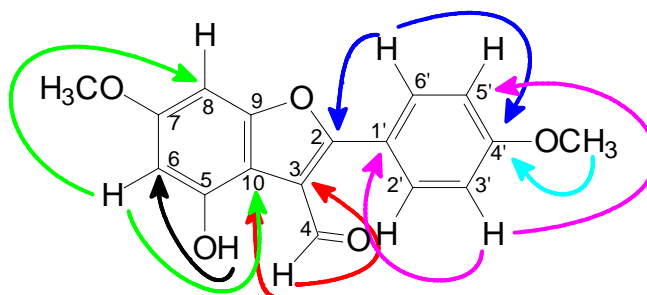


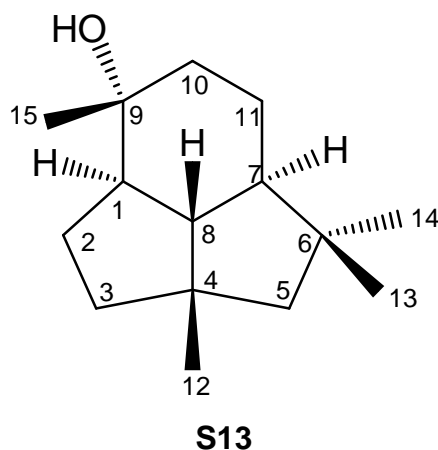
FIGURA 77. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S12**.

4.4. SESQUITERPENOS - IDENTIFICAÇÃO DE **S13** E **S19** E DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE **S14**, **S15**, **S16**, **S17**, **S18** E **S20**

As substâncias **S13**, **S14**, **S15**, **S16**, **S17**, **S18**, **S19** e **S20** apresentaram espectros de RMN de ^1H típicos de terpenos, com diversos sinais de grupos metila, metileno e metínico (δ 0,8 a 2,0). Os espectros de RMN de ^{13}C apresentaram sinais de 15 carbonos, indicando sesquiterpenos. Destas substâncias apenas **S13** e **S19** são conhecidas. As substâncias **S13** a **S18** foram isoladas como sólidos amorfos incolores e as substâncias **S19** e **S20** foram isoladas em mistura como um sólido cristalino branco.

A substância **S13** apresentou no seu espectro de RMN de ^1H (Figura 78; página 141), entre outros sinais, quatro simpletos em δ 0,92 (H-13), 0,97 (H-14), 1,07 (H-12) e 1,27 (H-15) referentes a grupos metila isolados. Não foram observados sinais de hidrogênios carbinólicos ou olefínicos. Os espectros de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e DEPT-135 (Figura 79; página 141) mostraram sinais de um carbono quaternário oxigenado em δ 76,0 (C-9), dois carbonos quaternários mais protegidos em δ 42,1 (C-4) e 46,6 (C-6), três carbonos metínicos em δ 60,9 (C-7), 62,3 (C-1) e 63,9 (C-8), cinco carbonos metilênicos em δ 27,0 (C-11), 29,7 (C-2), 45,3 (C-3), 45,5 (C-10) e 58,7 (C-5) e mais 4 carbonos metílicos em δ 21,8 (C-15), 22,1 (C-13), 28,8 (C-14) e 30,9 (C-12). Esses dados indicaram a fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$, correspondente a 3 graus de insaturação. Uma vez que não há nenhum carbono sp^2 , a molécula deve ser tricíclica. Os mapas de correlação ^1H - ^{13}C a uma ligação (Figura 80; página 142) e a longa distância (Figura 81; página 142) mostraram que os hidrogênios dos

grupos metila em δ 0,92 (H-13) e 0,97 (H-14) apresentam correlação à longa distância entre si, e com os carbonos em δ 46,6 (C-6), 58,7 (C-5) e 60,9 (C-7). Os hidrogênios do grupo metila em δ 1,07 (H-12) apresentam correlação com os carbonos em δ 42,1 (C-4), 45,3 (C-3), 58,7 (C-5) e 63,9 (C-8). Além disto, os hidrogênios da metila em δ 1,27 (H-15) apresentam correlação com os carbonos em δ 45,5 (C-10), 62,3 (C-1) e 76,0 (C-9). Esses dados apontam para um álcool sesquiterpênico com esqueleto carbônico do tipo presilphiperfolano, o que foi confirmado pelas demais correlações (Tabela 26; página 143; Figura 82; página 143). Com estes dados foi possível identificar **S13** como (rel.1*R*, 4*S*, 7*R*, 8*S*, 9*R*)-presilphiperfolan-9-ol, previamente isolado de *Artemisia chamaemelifolia* (ALBERTO MARCO *et al.*, 1996).



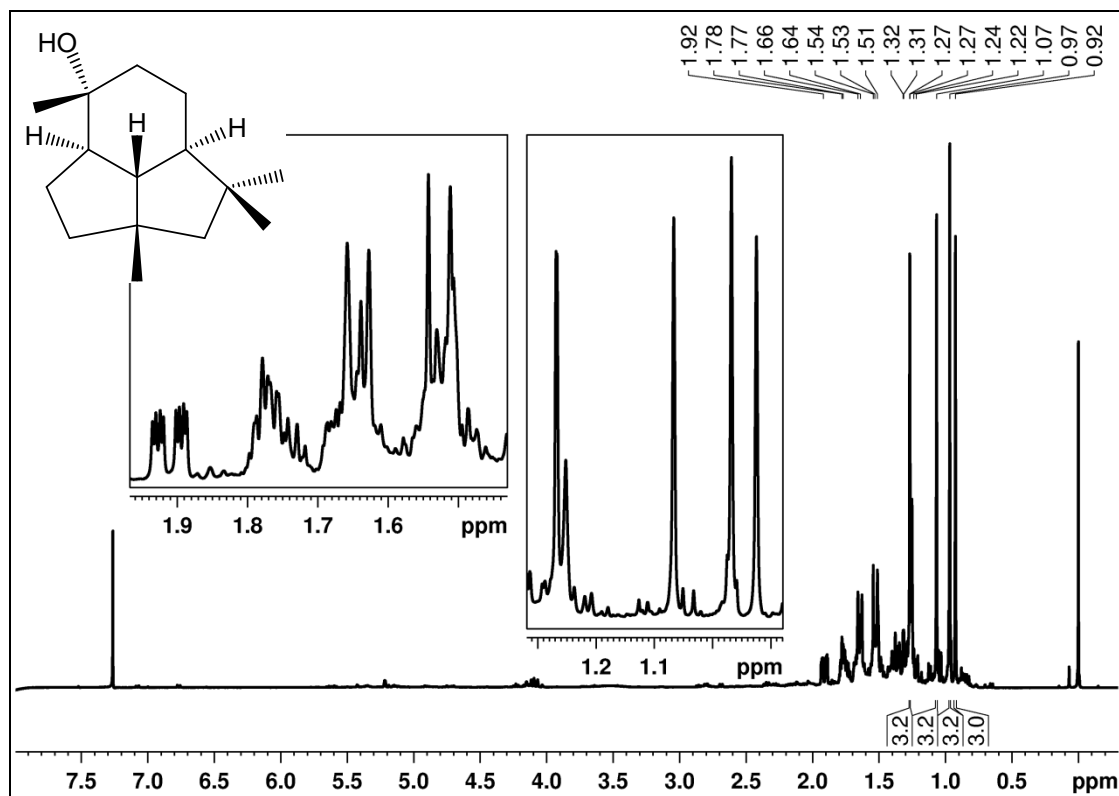


FIGURA 78. Espectro de RMN de ^1H de **S13** com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz).

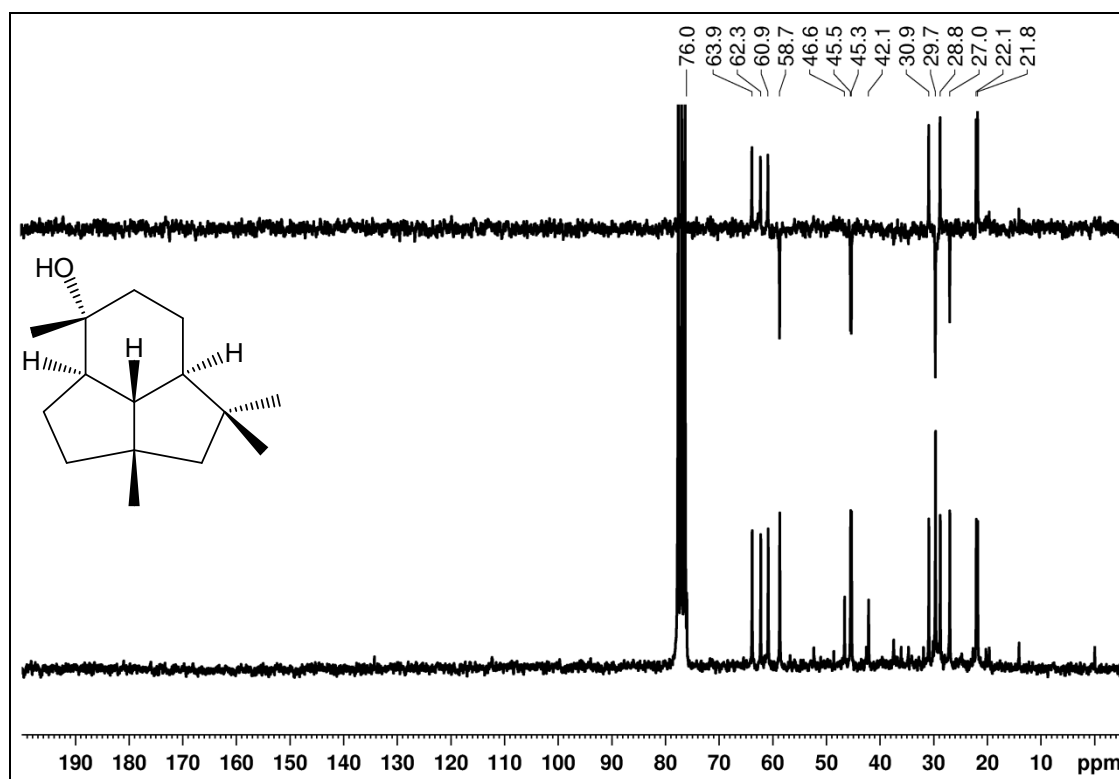


FIGURA 79. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ sobreposto com o DEPT-135 de **S13** (CDCl_3 , 50 MHz).

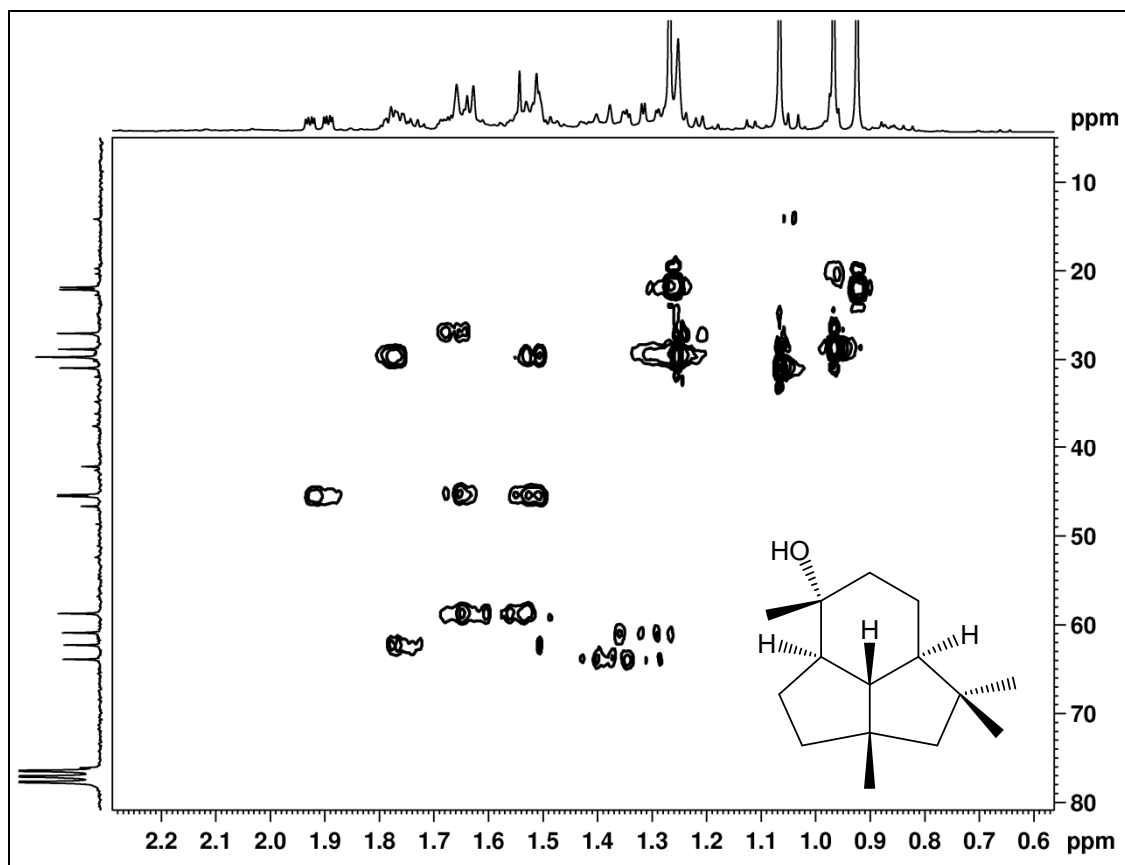


FIGURA 80. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S13** (CDCl_3 , 400 MHz).

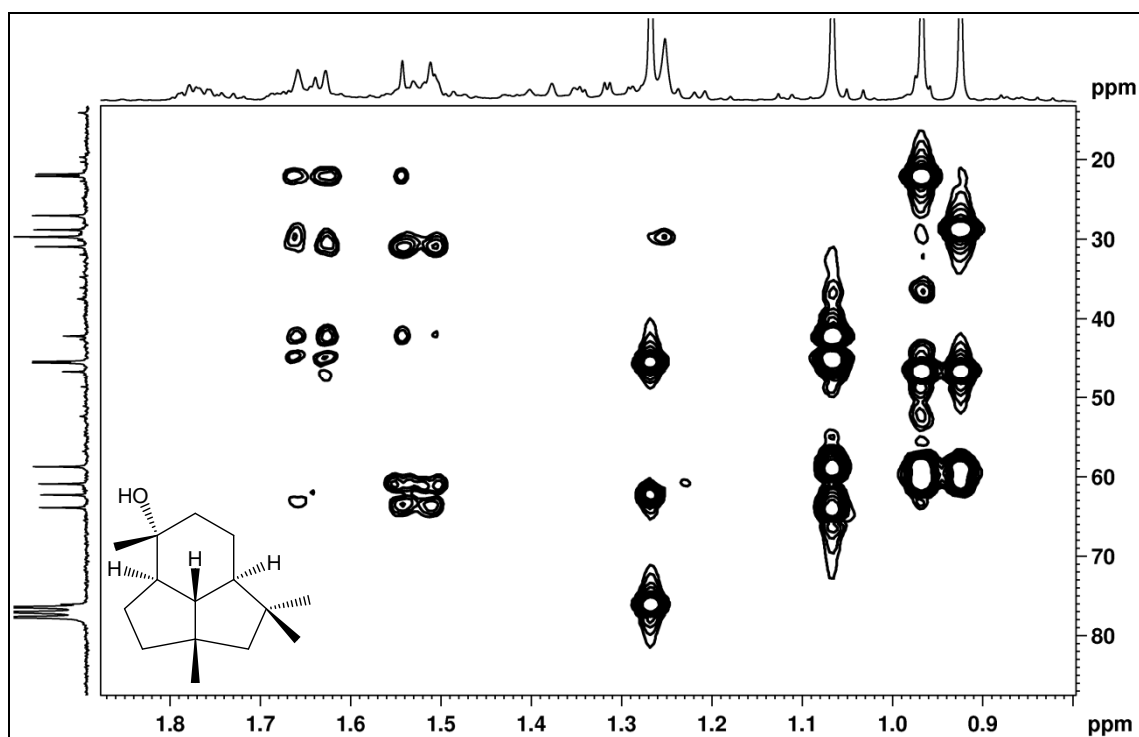


FIGURA 81. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S13** (CDCl_3 , 400 MHz).

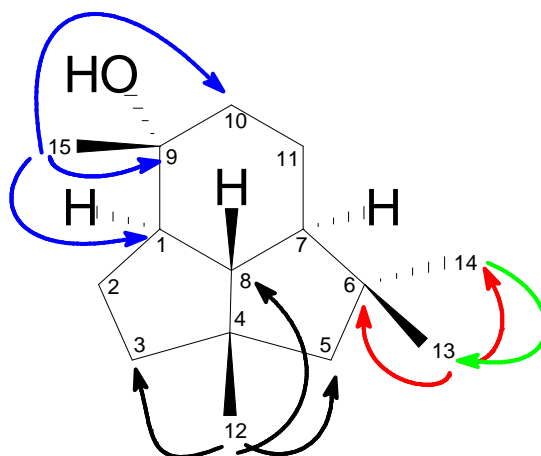


FIGURA 82. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S13**.

TABELA 26. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DE **S13** (CDCl_3 , 400 MHz) E COMPARAÇÃO COM DADOS DA LITERATURA (ALBERTO MARCO *et al.*, 1996).

Pos.	S13			Presilphiperfolan-9-ol	
	δ_{H} ; mult. (<i>J</i> em Hz)	δ_{C}	$^{\text{LD}}J_{\text{H,C}}$	δ_{H} ; mult. (<i>J</i> em Hz)	δ_{C}
1	1,76 <i>m</i>	62,3	7, 9	1,73 <i>m</i>	62,2
2a	1,55 <i>m</i>	29,7	4, 8	1,48 <i>m</i>	29,7
2b	1,77 <i>m</i>			1,73 <i>m</i>	
3a	1,50 <i>m</i>	45,3	8, 12	1,48 <i>m</i>	45,3
3b	1,65 <i>m</i>			1,60 <i>m</i>	
4	-	42,1	-	-	42,1
5a	1,53 <i>m</i>	58,7	3, 7, 8, 12, 13	1,43 <i>d</i> (13)	58,7
5b	1,64 <i>m</i>			1,60 <i>d</i> (13)	
6	-	46,6	-	-	46,6
7	1,31 <i>dd</i> (10,7;2,4)	60,9	8	1,28 <i>ddd</i> (10,5;10,5;2,5)	60,8
8	1,36 <i>d</i> (10,7)	63,9	7, 9	1,34 <i>dd</i> (10,5; 10,5)	63,8
9	-	76,0	-	-	76,0
10a	1,51 <i>m</i>	45,5	1, 7, 15	1,48 <i>m</i>	45,4
10b	1,91 <i>ddd</i> (13,3;4,4;1,9)			1,87 <i>ddd</i> (13;4;2)	
11a	1,23 <i>m</i>	27,0	6, 8	1,20 <i>m</i>	26,9
11b	1,66 <i>m</i>			1,60 <i>m</i>	
12	1,07 <i>s</i>	30,9	3, 4, 5, 8	1,03 <i>s</i>	30,9
13	0,92 <i>s</i>	22,1	5, 6, 7, 14	0,88 <i>s</i>	22,0
14	0,97 <i>s</i>	28,8	5, 6, 7, 13	0,93 <i>s</i>	28,8
15	1,27 <i>s</i>	21,8	1, 9, 10	1,22 <i>s</i>	21,7

A substância **S14** apresentou no espectro de massas de alta resolução no modo positivo (Figura 91; página 149) um pico de m/z em 235,1694, indicando a fórmula molecular $C_{15}H_{23}O_2$. O seu espectro de RMN de 1H (Figura 85; página 146) mostrou sinais de três grupos metila, sendo um em δ 0,83 (d , $J=6,8$ Hz, H-15), e os outros dois como simpletos em δ 1,18 (H-12) e 1,23 (H-14); de um hidrogênio olefínico em δ 6,71 (d , $J=0,8$ Hz, H-5), e diversos multipletos entre δ 0,99 e 1,89. O espectro de RMN de $^{13}C\{^1H\}$ (Figura 86; página 147) apresentou quinze sinais, entre eles, um sinal em δ 170,6 (C-13), indicando a presença de uma carboxila. Em comparação com o espectro DEPT-135 (Figura 86; página 147) foi determinada a presença de três carbonos metílicos em δ 27,4 (C-12), 25,4 (C-14) e 15,6 (C-15), quatro metilênicos em δ 39,2 (C-3), 32,4 (C-11), 29,8 (C-10) e 27,6 (C-2), quatro metínicos em δ 155,1 (C-5), 58,1 (C-8), 44,0 (C-1) e 27,3 (C-9) e quatro quaternários em δ 170,6 (C-13), 138,7 (C-6), 51,8 (C-4) e 47,4 (C-7). Esses dados sugerem um sesquiterpeno tricíclico com uma ligação dupla e um grupo carboxila. O elevado deslocamento químico do carbono olefínico ligado ao hidrogênio indica que a ligação dupla está conjugada com o grupo carbonila. Esses dados são semelhantes aos de um esqueleto triquinano 6/5/5, do tipo presilphiperfolano (ALBERTO MARCO *et al.*, 1996), como em **S13**.

Como pode ser notado, no esqueleto do tipo presilphiperfolano há dois grupos metila ligados ao mesmo carbono (C-6). Entretanto a análise dos experimentos de correlação 1H - ^{13}C direta (Figura 87; página 147) e a longa distância (Figura 88; página 148) não mostrou a presença dessa feição estrutural em **S14**. Isso nos levou a proposição de um esqueleto rearranjado, formado pela migração de um grupo metila de C-6 para C-7. Esse novo esqueleto foi coerente com todas as correlações observadas nos experimentos de RMN bidimensionais (Tabela 27; página 153) e foi nomeado de leucotrichano.

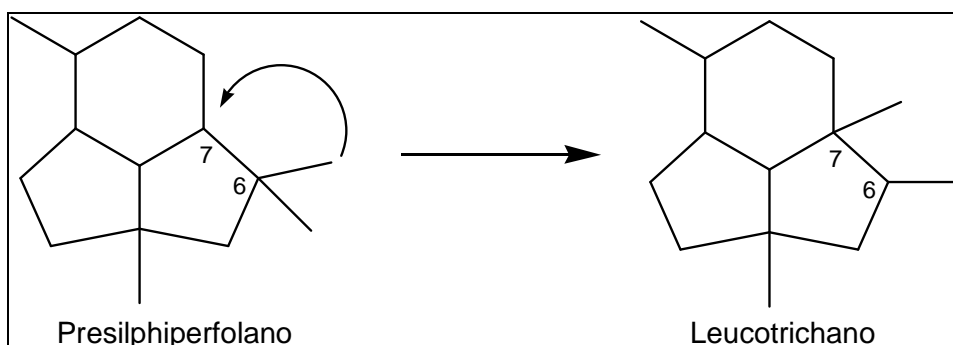
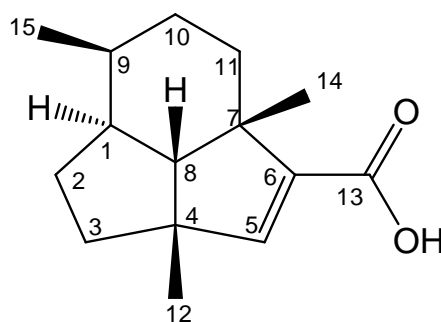


FIGURA 83. Formação do esqueleto leucotrichano a partir do presilphiperfolano.

A configuração relativa (C-1, C-4, C-7, C-8 e C-9) desta molécula foi determinada por experimentos de NOE. A irradiação seletiva do hidrogênio em δ 1,89 (H-9) (Figura 90; página 149) causou aumento na intensidade do sinal dos hidrogênios em δ 0,83 (H-15), 0,99 (H-10a) e 1,71 (H-1). Por outro lado a irradiação seletiva do hidrogênio em δ 1,40 (H-8) (Figura 89; página 148) causou aumento na intensidade do sinal dos hidrogênios em δ 0,83 (H-5), 1,18 (H-12), 1,23 (H-14) e 1,72 (H-3b). Com estas observações pode-se inferir com certeza a configuração relativa da molécula como sendo 1*S**, 4*R**, 7*S**, 8*S**, 9*S**. Esse novo composto (**S14**) foi nomeado ácido leucotrichóico.



S14

A fim de determinar a configuração absoluta foi realizada uma análise conformacional de **S14** utilizando modelos moleculares e cálculos da teoria de densidade funcional (B3LYP) (STEPHENS *et al.*, 1994; FRISCH, 2003). Essa molécula possui 3 anéis, tendo pouca flexibilidade, de modo que, o anel de seis membros pode adotar apenas duas conformações, cadeira ou barco torcido. Essas duas conformações foram submetidas à análise conformacional, que resultou na indicação de que a conformação em barco torcido é menos energética (16 kJ mol⁻¹). Uma repulsão estérica é observada na conformação em cadeira, na qual o grupo metila em δ 0,83 (C-15) mostra interações 1,3-diaxiais com os hidrogênios em δ 1,40 (H-8) e 1,52 (H-11) (Figura 84; página 146). A rotação ótica teórica também foi calculada para o composto com a conformação de menor energia. Este cálculo mostrou que o isômero 1*S*, 4*R*, 7*S*, 8*S*, 9*S* é levorotatório e como o resultado experimental de rotação específica de **S14** foi negativa (-211,2), esta foi assinalada como a configuração absoluta do ácido leucotrichóico.

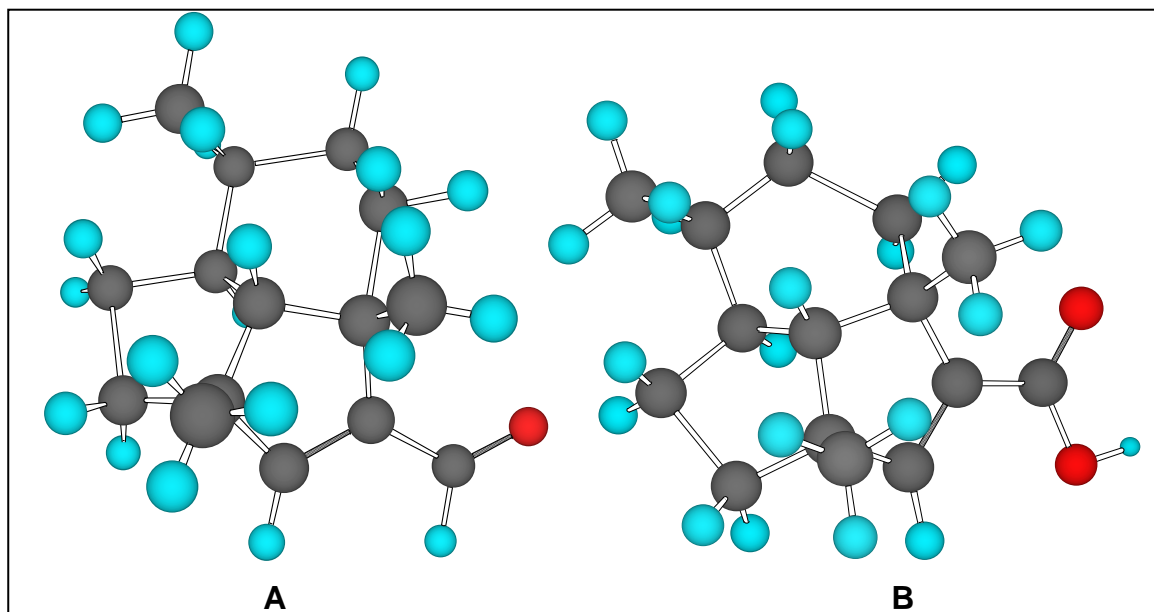


FIGURA 84. Principais conformações de **S14** (B é a menos energética).

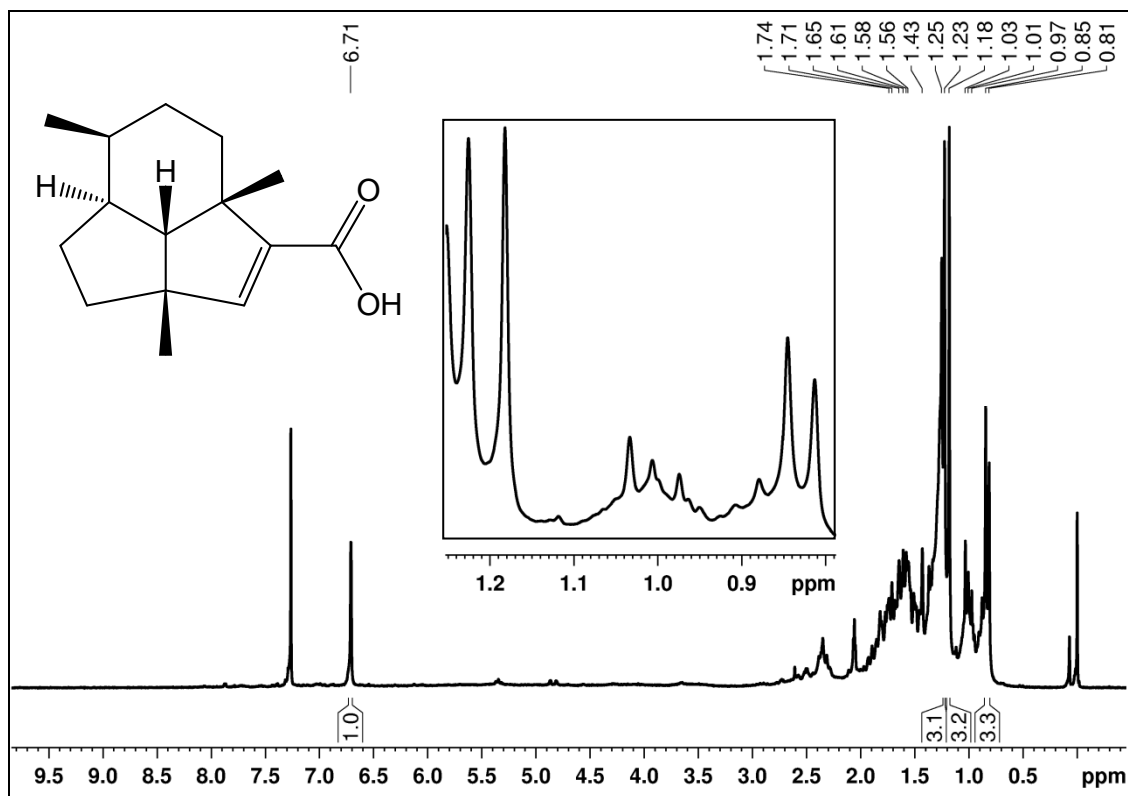


FIGURA 85. Espectro de RMN de ^1H de **S14** com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz).

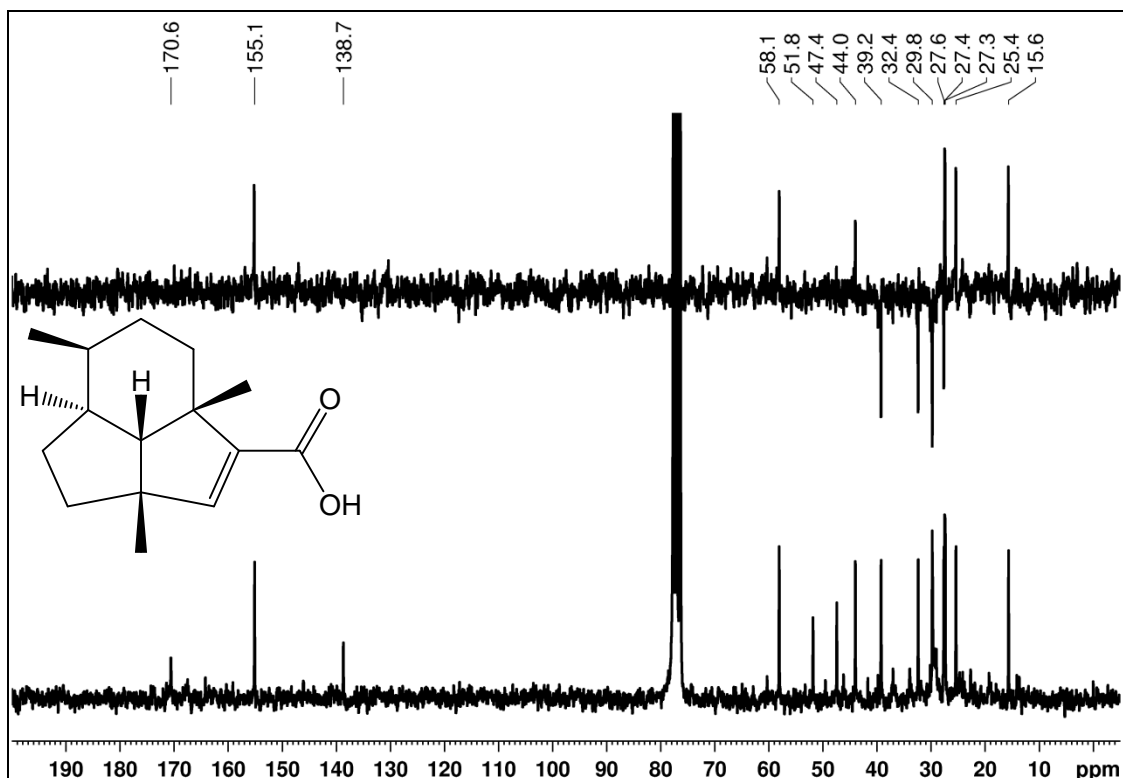


FIGURA 86. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ sobreposto com DEPT-135 de **S14** (CDCl_3 , 50 MHz).

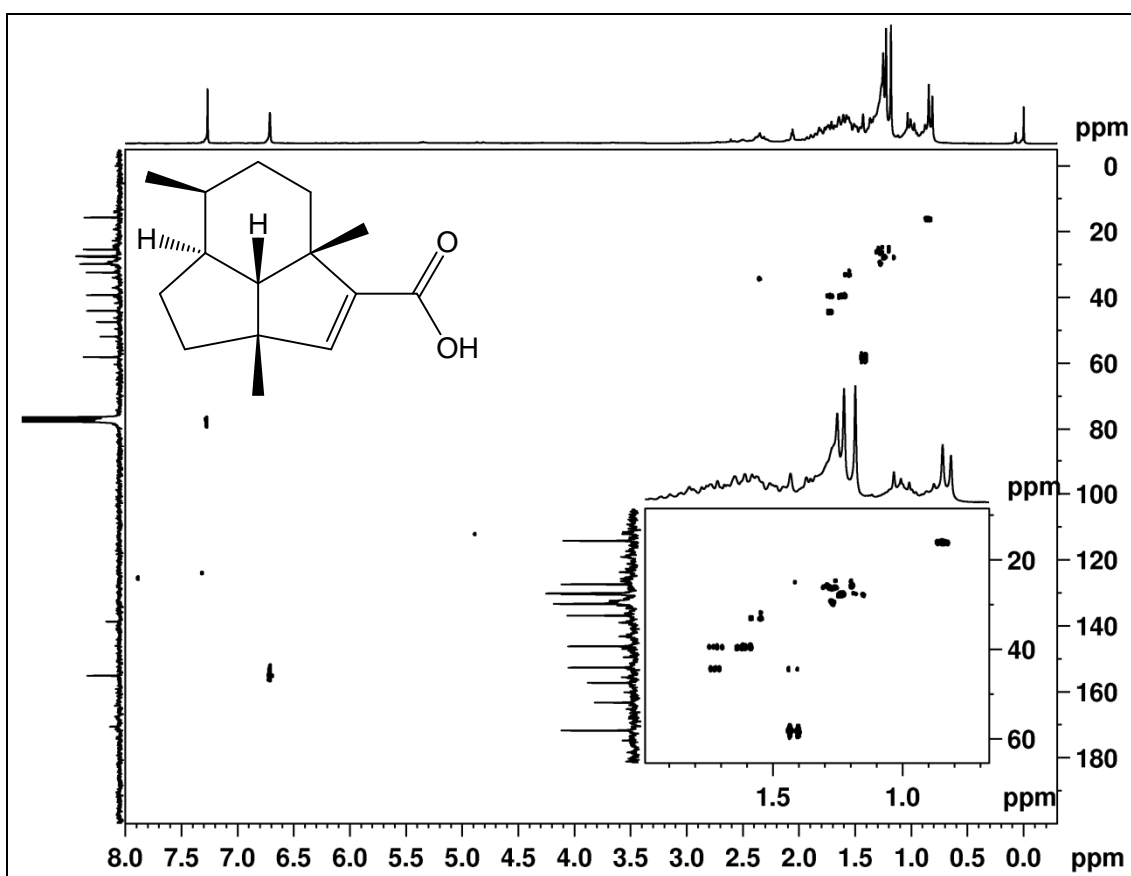


FIGURA 87. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S14** com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz).

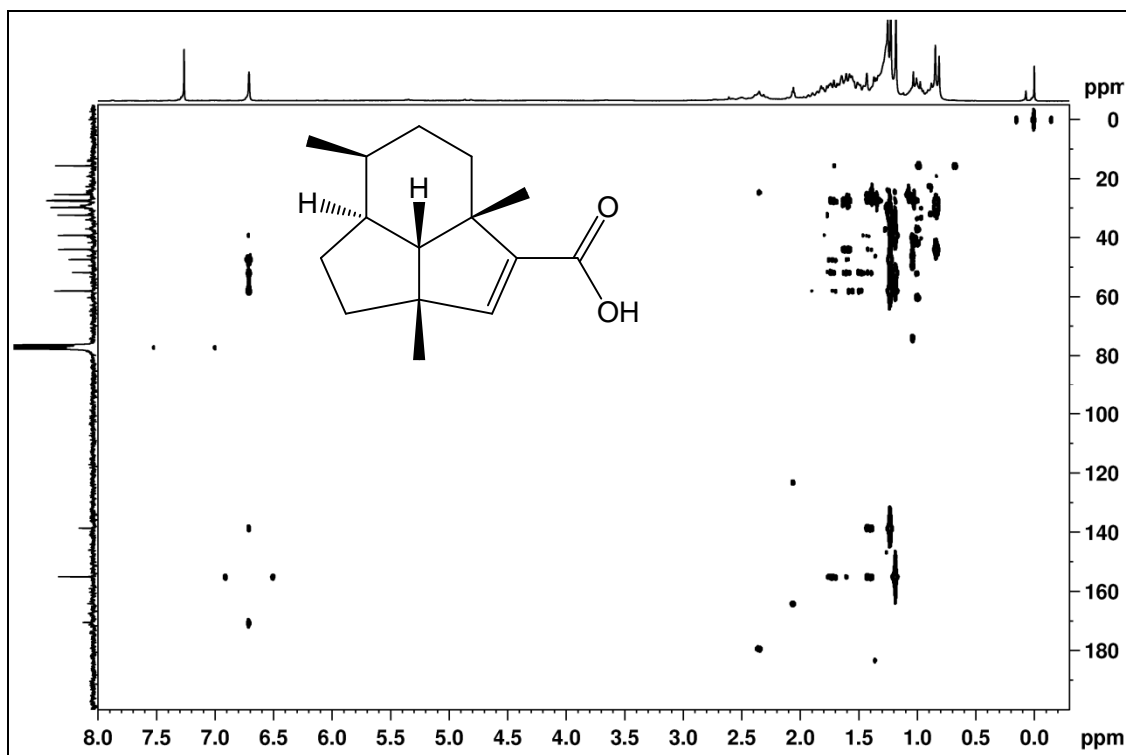


FIGURA 88. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S14** (CDCl_3 , 400 MHz).

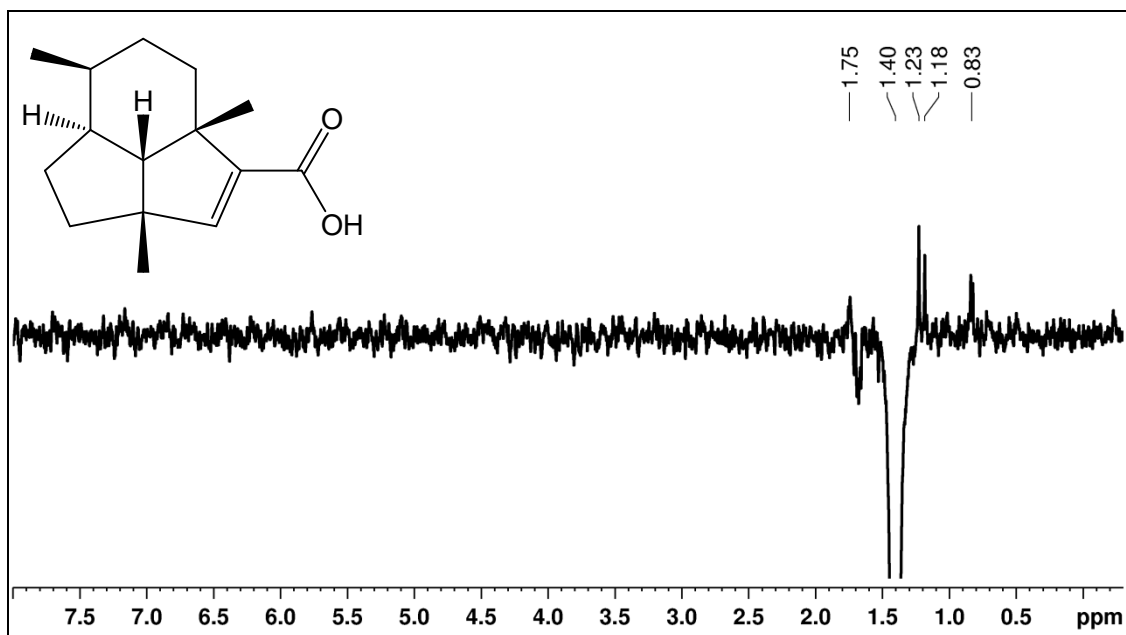


FIGURA 89. NOE de **S14** irradiando o hidrogênio em δ 1,40 (H-8) (CDCl_3 , 400 MHz).

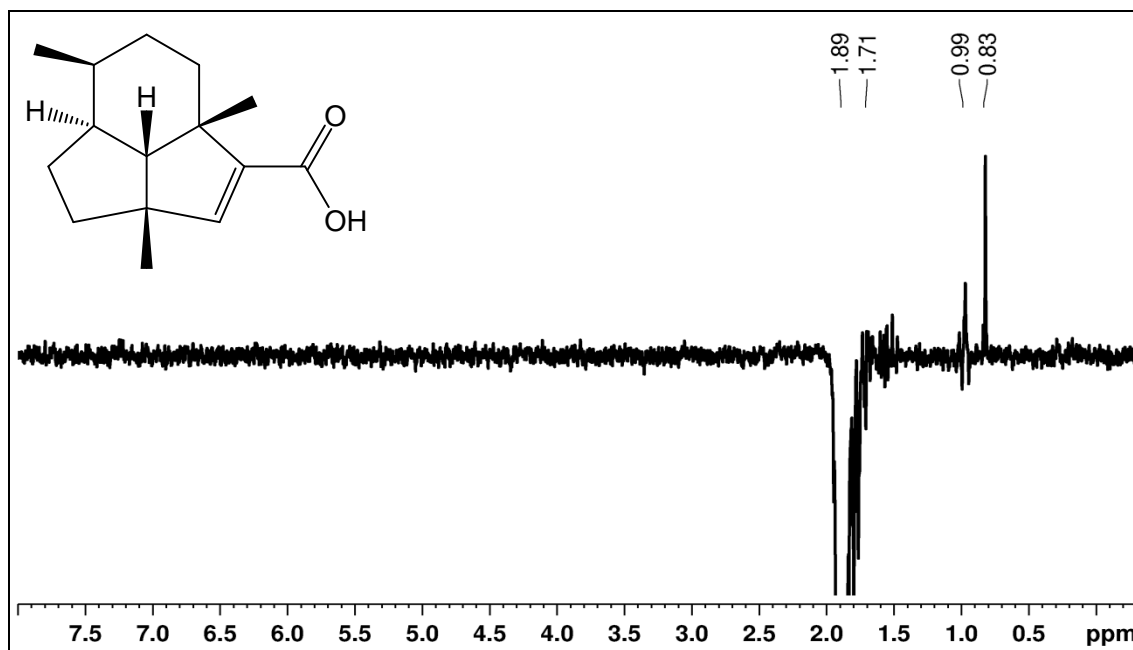


FIGURA 90. NOE de **S14** irradiando o hidrogênio em δ 1,89 (H-9) (CDCl_3 , 400 MHz).

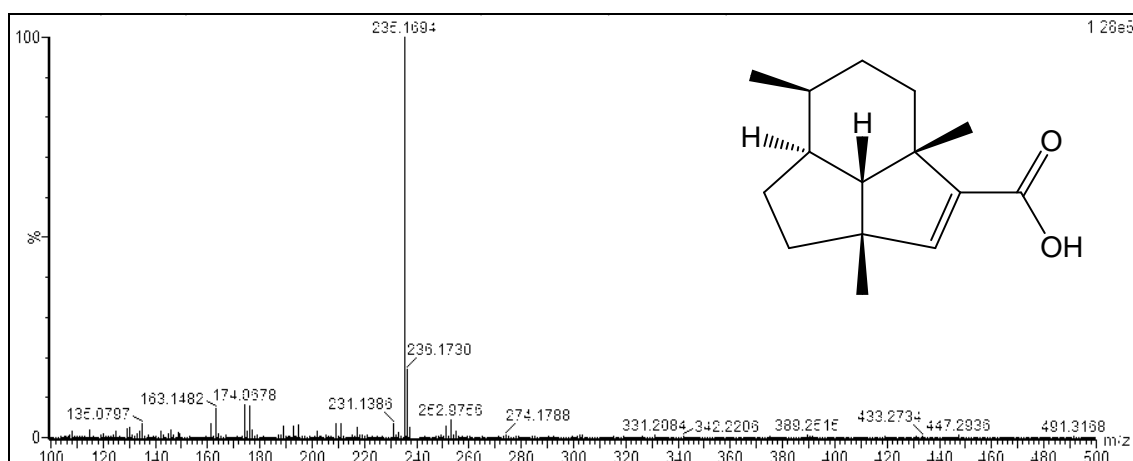


FIGURA 91. Espectro de massas de alta resolução no modo positivo ($[\text{M}+\text{H}]^+$) de **S14**.

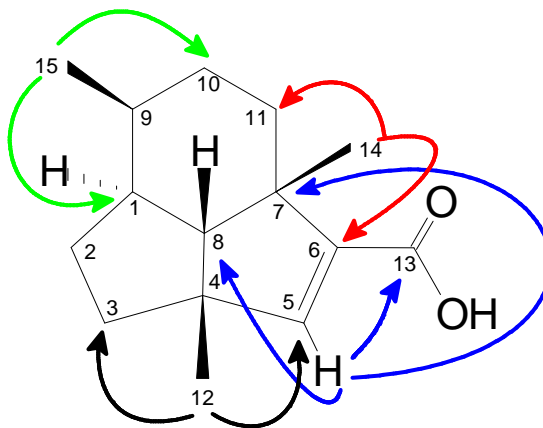
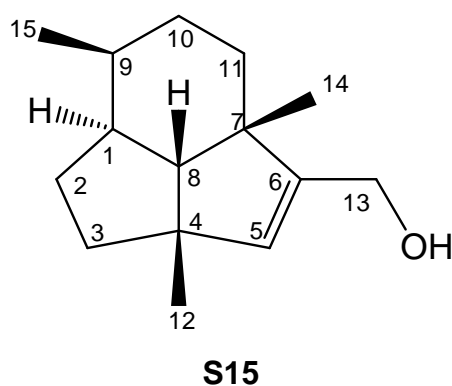


FIGURA 92. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S14**.

O espectro de massas de alta resolução no modo positivo de **S15** (Figura 96; página 152) apresentou um pico em m/z 221,1391, correspondente a uma fórmula molecular $C_{15}H_{25}O$. O seu espectro de RMN de 1H (Figura 93; página 151) foi muito semelhante ao da substância **S14**, porém **S15** apresentou sinais de dois hidrogênios oximetilênicos em δ 4,15 (H-13) e o hidrogênio olefínico (H-5) estava mais protegido (δ 5,42). Pela análise do mapa de correlação direta 1H - ^{13}C (Figura 94; página 151) verificou-se que os hidrogênios em δ 4,15 (H-13) estão ligados ao carbono em δ 59,8 (C-13). O mapa de correlação 1H - ^{13}C a longa distância (Figura 95; página 152) mostrou que esses hidrogênios fazem correlação com o carbono em δ 146,9 (C-6) (Tabela 27; página 153; Figura 97; página 153). Portanto **S15** é um álcool primário, tendo o grupo oximetileno na posição C-13 do esqueleto leucotrichano, sendo denominado leucotrichol. A estereoquímica absoluta de **S15** foi assinalada como 1*S*, 4*R*, 7*S*, 8*S*, 9*S* por comparação com **S14**, uma vez que ambas apresentam deslocamentos químicos semelhantes e são levorotatórias.



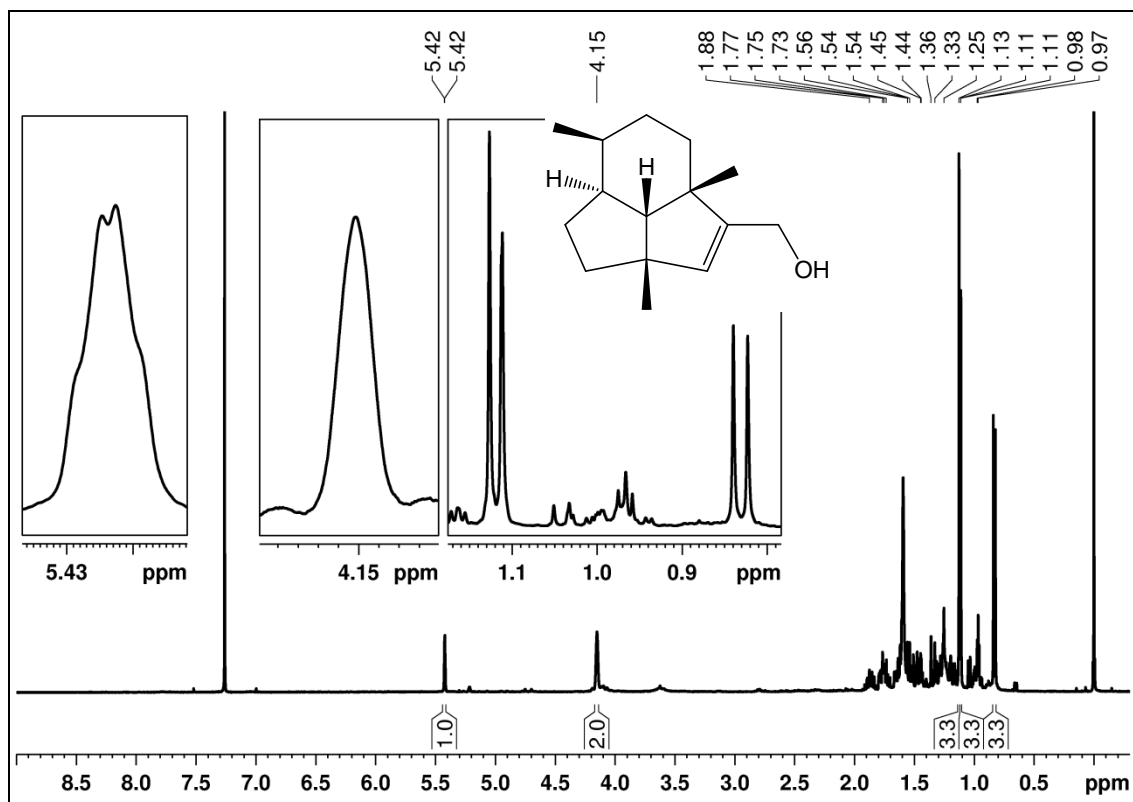


FIGURA 93. Espectro de RMN de ^1H de **S15** com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz).

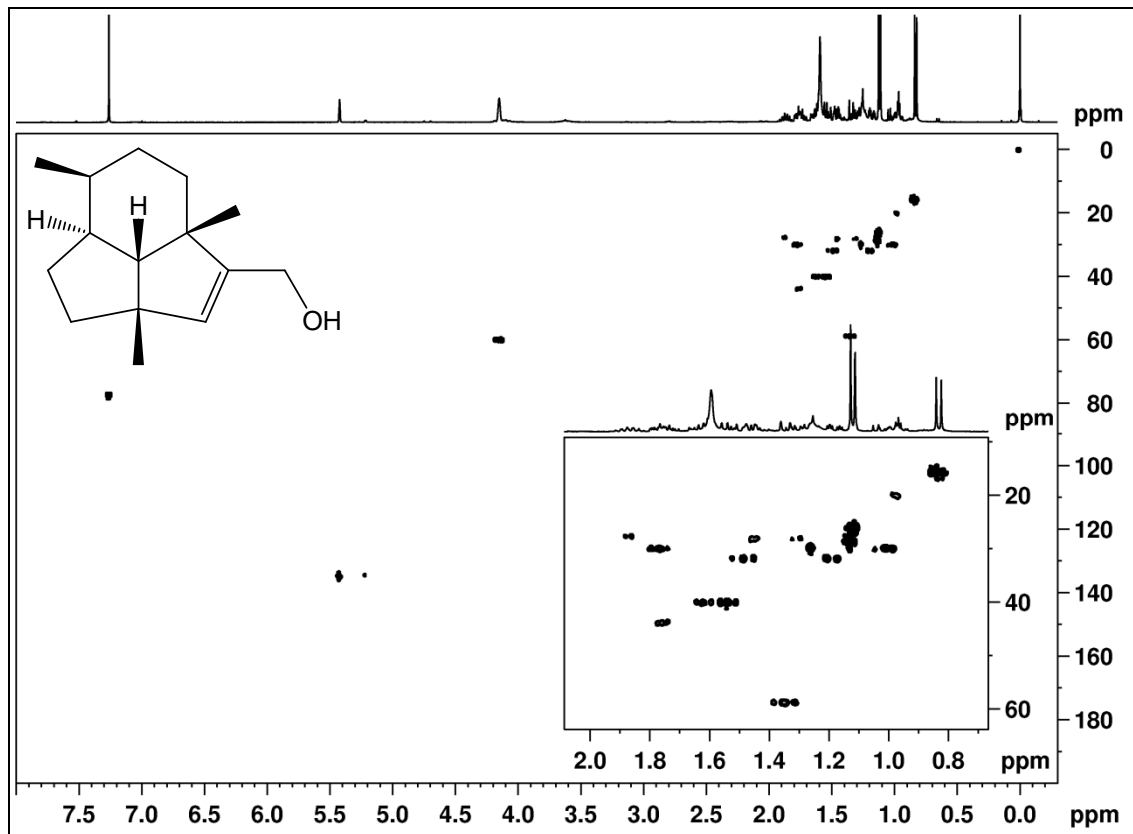


FIGURA 94. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S15** com ampliação (CDCl_3 , 400 MHz).

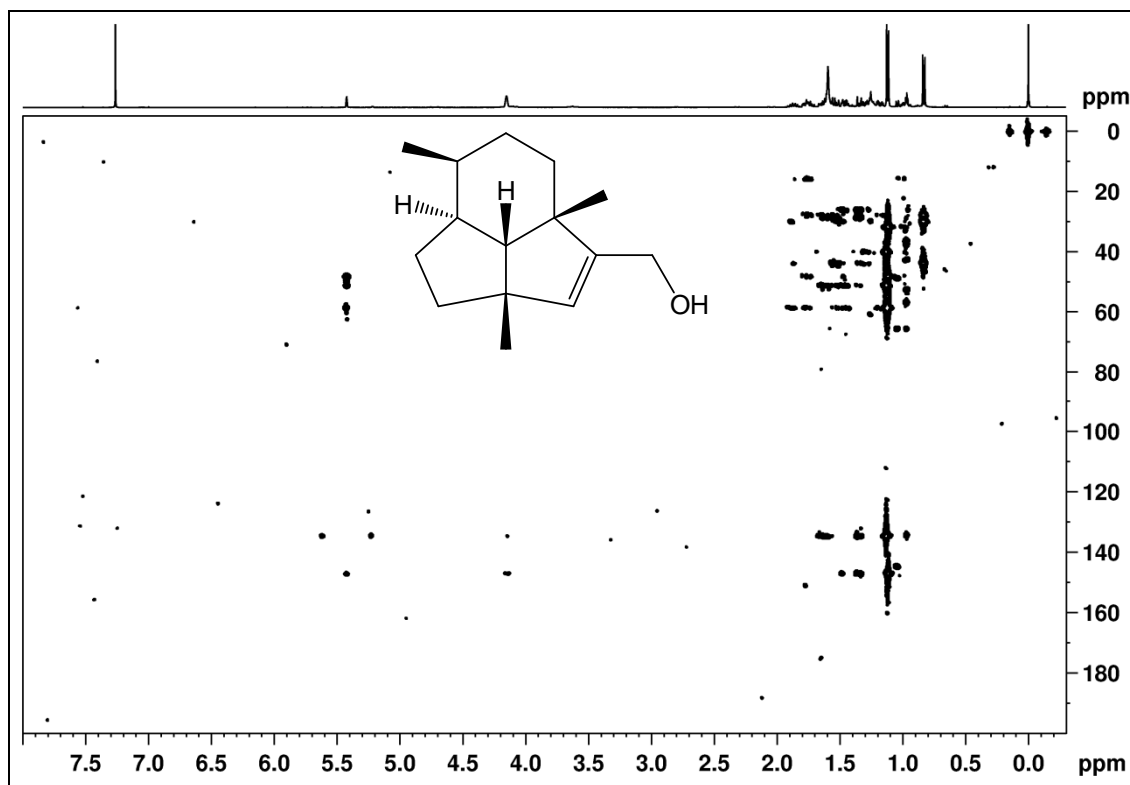


FIGURA 95. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S15** (CDCl_3 , 400 MHz).

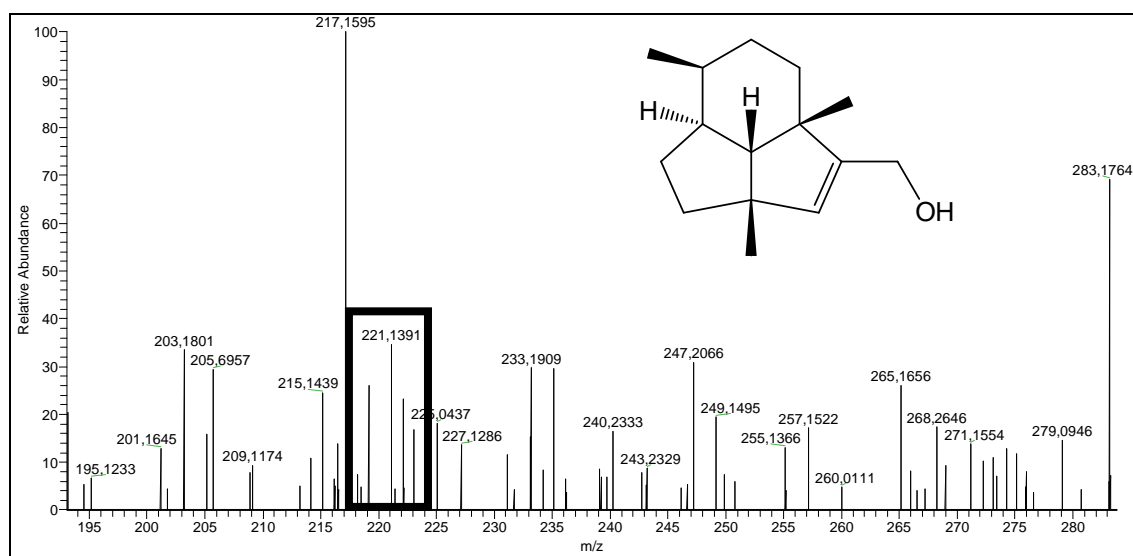
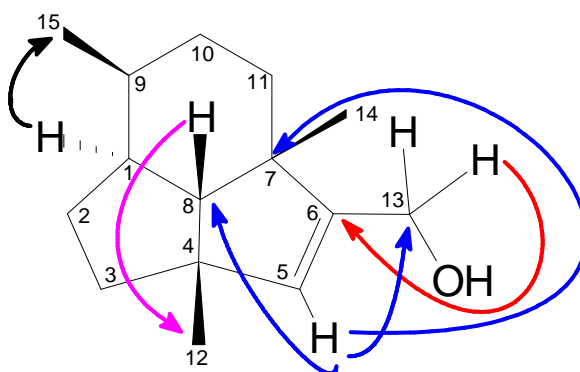


FIGURA 96. Espectro de massas de alta resolução no modo positivo ($[\text{M}+\text{H}]^+$) de **S15**.

TABELA 27. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DAS SUBSTÂNCIAS **S14** E **S15** (CDCl_3 , 400 MHz).

S14				S15		
Posição	δ_{H} ; mult. (J em Hz)	δ_{C}	$^{\text{LD}} J_{\text{H,C}}$	δ_{H} ; mult. (J em Hz)	δ_{C}	$^{\text{LD}} J_{\text{H,C}}$
1	1,71 <i>m</i>	44,0	7,8,15	1,75 <i>m</i>	43,7	2,7,8,15
2a	1,30 <i>m</i>	27,6	4,8	1,30 <i>m</i>	28,0	1,3
2b	1,49 <i>m</i>		4,8	1,45 <i>m</i>		4,8
3a	1,60 <i>m</i>	39,2	1,2,4	1,54 <i>m</i>	39,9	1,2,4,8
3b	1,72 <i>m</i>		2,4,5,8	1,62 <i>m</i>		2,4,5
4	-	51,8	-	-	51,0	-
5a	6,71 <i>d</i> (0,8)	155,1	3,4,6,7,8,12,13	5,42 <i>q</i> (0,9)	134,5	4,6,7,8,13
5b						
6	-	138,7	-	-	146,9	-
7	-	47,4	-	-	48,0	-
8	1,40 <i>dd</i> (12,6:0,8)	58,1	5,6,9,12,14	1,34 <i>d</i> (12,5)	58,6	1,4,5,6,9,12,14
9	1,89 <i>m</i>	27,3	8,10,15	1,87 <i>m</i>	28,6	8,10
10a	0,99 <i>m</i>	29,8	11	1,00 <i>m</i>	29,9	11,15
10b	1,79 <i>m</i>		7,9,15	1,76 <i>m</i>		7,9,15
11a	1,52 <i>m</i>	32,4	7,8,9,10,14	1,18 <i>m</i>	31,7	8
11b	1,56 <i>m</i>		6,7,8,10,14	1,48 <i>m</i>		6,7,8,10,14
12	1,18 <i>s</i>	27,4	3,4,5,8	1,13 <i>s</i>	27,6	3,4,5,8
13	-	170,6	-	4,15 <i>s/l</i>	59,8	5, 6
14	1,23 <i>s</i>	25,4	6,7,8,11	1,11 <i>d</i> (0,5)	25,9	6,7,8,11
15	0,83 <i>d</i> (6,8)	15,6	1,9,10	0,83 <i>d</i> (6,7)	15,6	1,9,10

FIGURA 97. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S15**.

A substância **S16** apresentou no espectro de RMN de ^1H (Figura 98; página 155) entre outros, sinais de dois hidrogênios oximetilênicos em δ 4,11(H-14b) e 4,05 (H-14a), um hidrogênio olefínico em δ 5,22 (*ddd*, $J=2,3$, 1,3 e 1,2 Hz, H-9), e de três

grupos metila, sendo um simpleto em δ 0,97 (H-13) e dois dupletos em δ 0,97 ($J=6,6$ Hz, H-12) e 1,04 ($J=7,3$ Hz, H-15). A combinação do espectro $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ com o experimento DEPT-135 (Figura 99; página 156) permitiu deduzir a presença de três carbonos quaternários em δ 144,6 (C-10), 65,4 (C-1) e 56,8 (C-8), quatro metínicos em δ 134,3 (C-9), 52,4 (C-5), 48,6 (C-11), 42,6 (C-4), cinco metilênicos em δ 60,8 (C-14), 37,5 (C-6), 36,1 (C-7), 34,7 (C-2) e 30,1 (C-3), e três metílicos em δ 20,3 (C-12), 19,7 (C-13) e 14,1 (C-15). Considerando esses dados, pode-se dizer que **S16** é um sesquiterpeno tricíclico com uma ligação dupla e um grupo CH_2OH . Uma pesquisa na literatura sugeriu um esqueleto triquinano 5/5/5, do tipo silphiperfolano (subtipo subergano) (GROWEISS *et al.*, 1985), o qual foi confirmado pelas correlações observadas nos experimentos de RMN bidimensionais (Tabela 28; página 159). Por exemplo, no mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (Figura 100; página 156), pode-se visualizar que o hidrogênio em δ 2,80 (H-11) está ligado ao carbono em δ 48,6 (C-11), os hidrogênios oximetilênicos (H-14) estão ligados ao carbono em δ 60,8 (C-14), e o hidrogênio em δ 1,85 (H-5) está ligado ao carbono em δ 52,4 (C-5). No mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (Figura 101; página 157), pode-se observar que o hidrogênio em δ 2,80 (H-11) faz correlação com os carbonos em δ 14,1 (C-15), 65,4 (C-1) e 144,6 (C-10); os hidrogênios em δ 4,05 e 4,11 (H-14) apresentam correlação com os carbonos em δ 48,6 (C-11), 134,3 (C-9), 144,6. Os grupos metila H-12 e H-13 têm o mesmo deslocamento químico (δ 0,97), mas o primeiro é um duplete e o segundo um simpleto. Os hidrogênios em δ 0,97 (H-12) mostram correlações com os carbonos em δ 42,6 (C-4) e 52,4 (C-5), enquanto que as correlações dos hidrogênios em δ 0,97 (H-13) são com os carbonos em δ 36,1 (C-7), 56,8 (C-8), 65,4 (C-1) e 134,3 (C-9) (Figura 105; página 159). Com isto a estrutura de **S16** pode ser proposta como um álcool primário baseado no esqueleto subergano. Uma substância com a mesma estrutura plana foi previamente isolada de *Subergorgia suberosa* e recebeu o nome de subergorgiol (WANG *et al.*, 2002). Entretanto os nossos dados de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ foram diferentes daqueles publicados, sugerindo que **S16** é um diastereoisômero do subergorgiol. Para confirmar isso foram realizados experimentos de NOE. A irradiação seletiva de H-5 (δ 1,85) (Figura 102; página 157) causou aumento na intensidade do sinal de H-15 (δ 1,04) e H-12 (δ 0,97). Por outro lado a irradiação seletiva de H-11 (δ 2,80) (Figura 103; página 158) causou aumento na intensidade do sinal de H-13 (δ 0,97). Com

estes resultados pode-se inferir a estereoquímica relativa mostrada na estrutura **S16**, a qual difere daquela do subergorgiol pela configuração no carbono 11. É, portanto um epímero do subergorgiol, sendo denominado 11-*epi*-subergorgiol. Os dados de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de **S16** estão de acordo com aqueles de outros silphiperfolenos com a mesma estereoquímica relativa (ALBERTO MARCO *et al.*, 1996). O espectro de massas de alta resolução no modo positivo (Figura 104; página 158) corrobora esta identificação, pois indicou uma fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{O}$, igual àquela de **S16**.

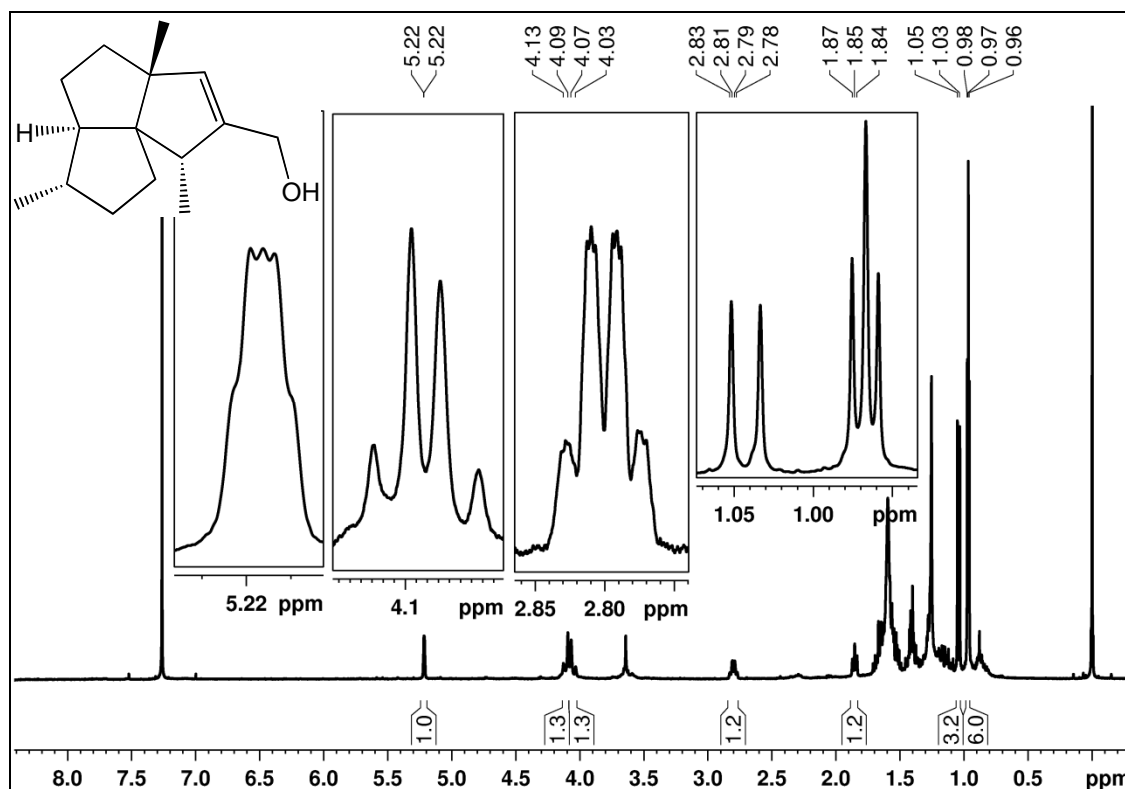
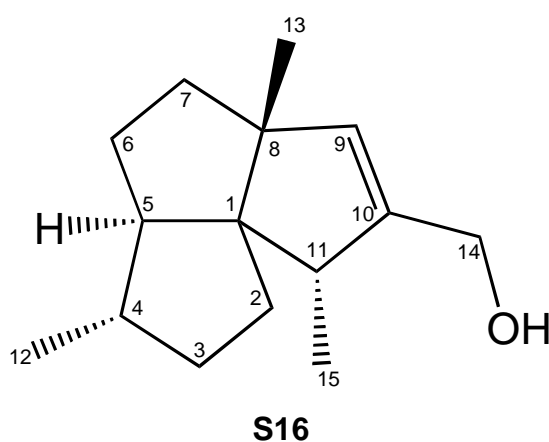


FIGURA 98. Espectro de RMN de ^1H de **S16** com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz).

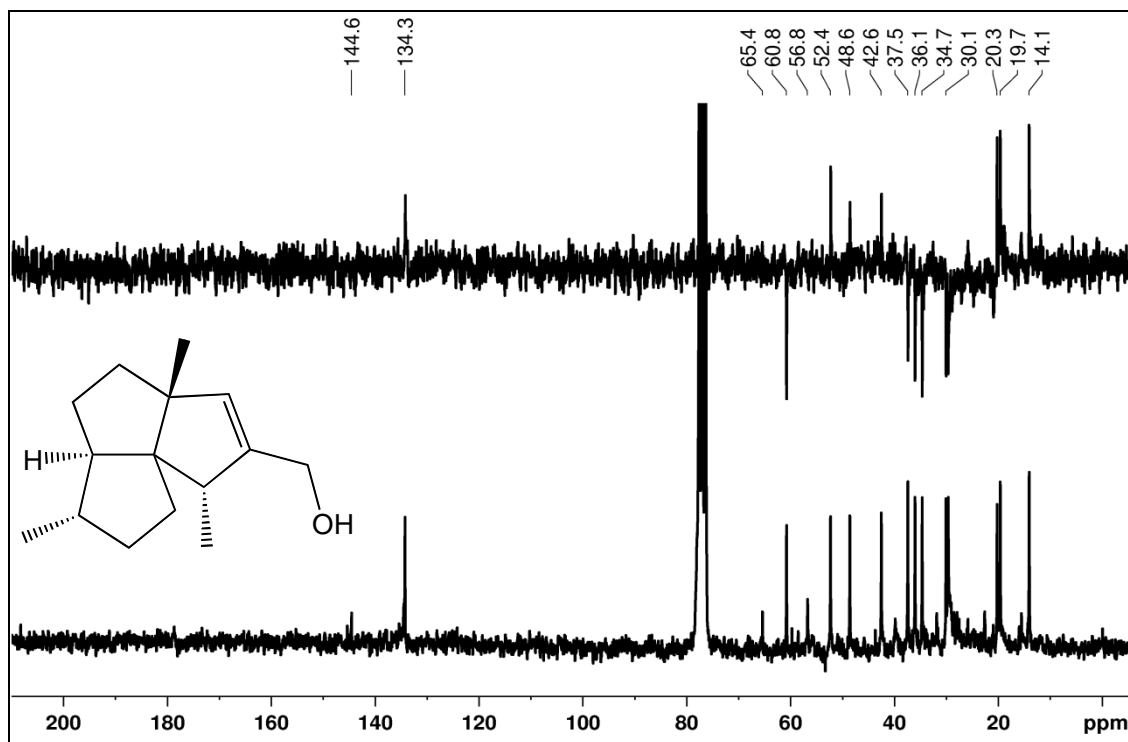


FIGURA 99. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ sobreposto com DEPT-135 de **S16** (CDCl_3 , 50 MHz).

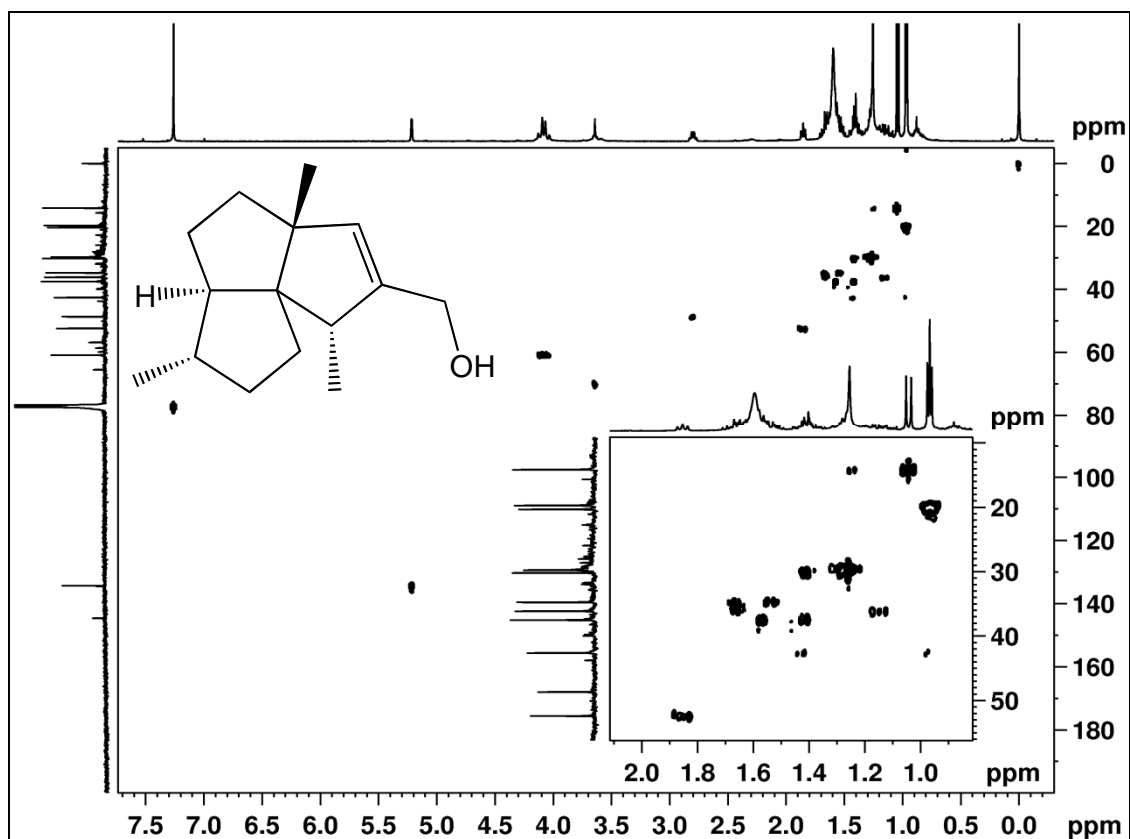


FIGURA 100. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S16** com ampliação (CDCl_3 , 400 MHz).

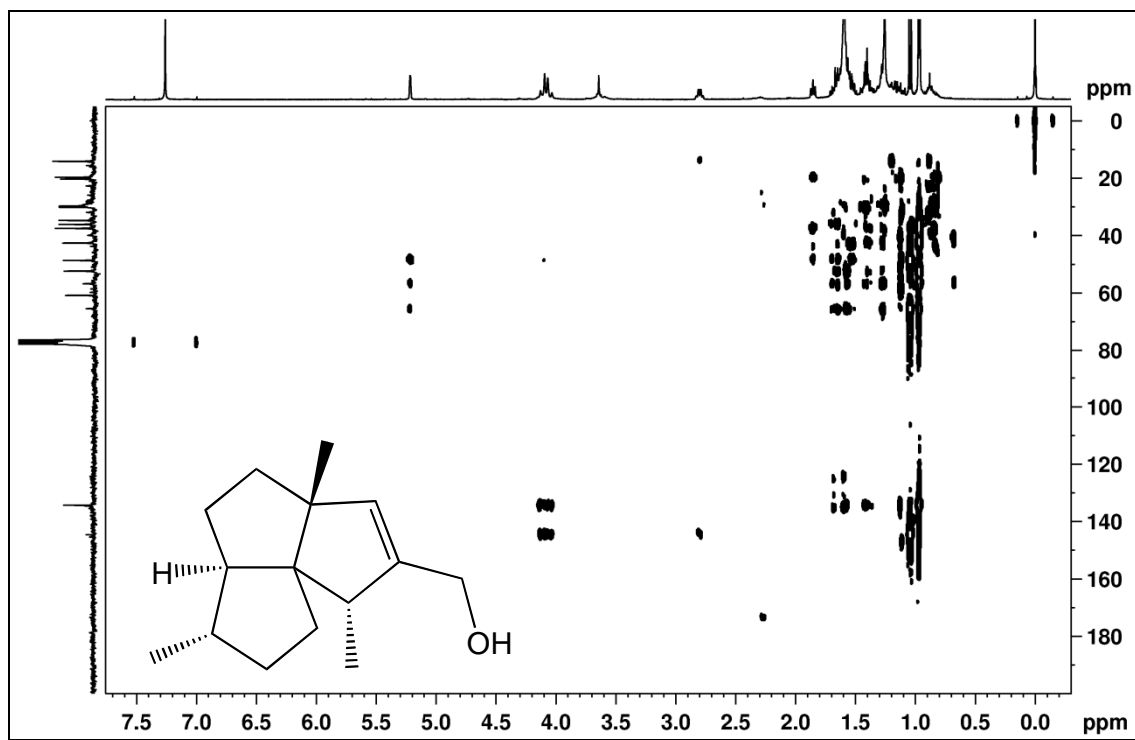


FIGURA 101. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S16** (CDCl_3 , 400 MHz).

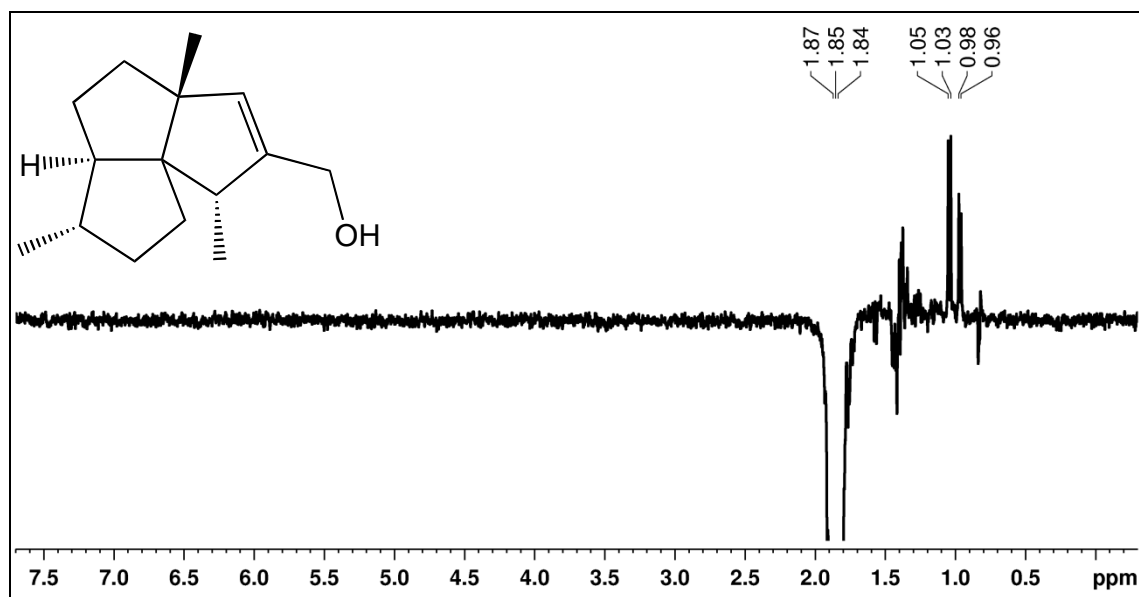


FIGURA 102. NOE de **S16** irradiando o hidrogênio em δ 1,85 (H-5) (CDCl_3 , 400 MHz).

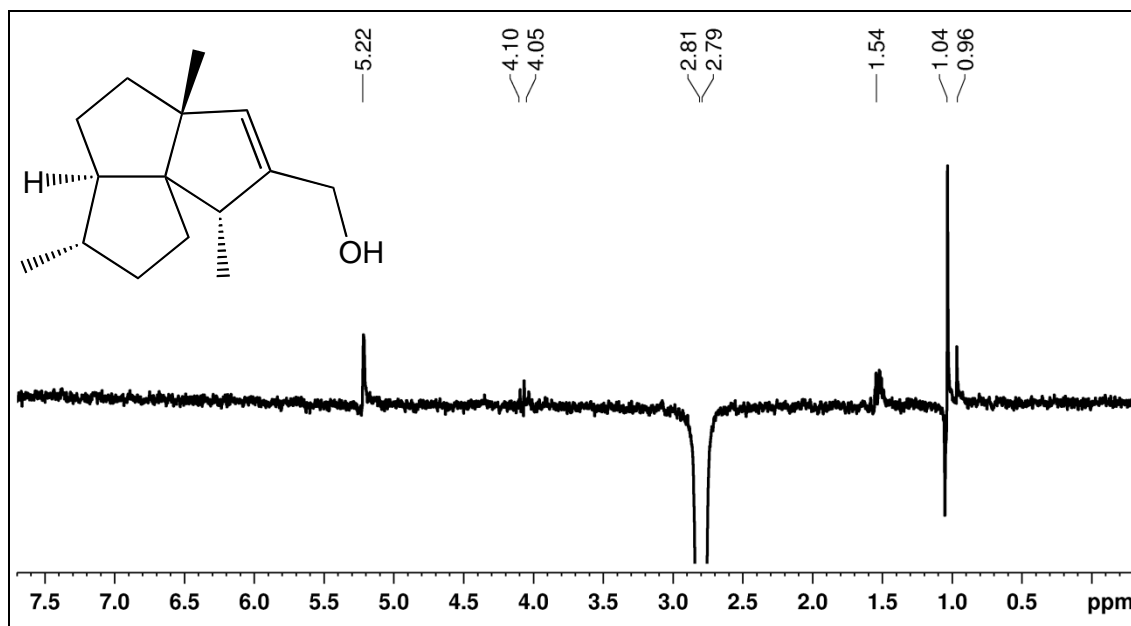


FIGURA 103. NOE de **S16** irradiando o hidrogênio em δ 2,80 (H-11) (CDCl₃, 400 MHz).

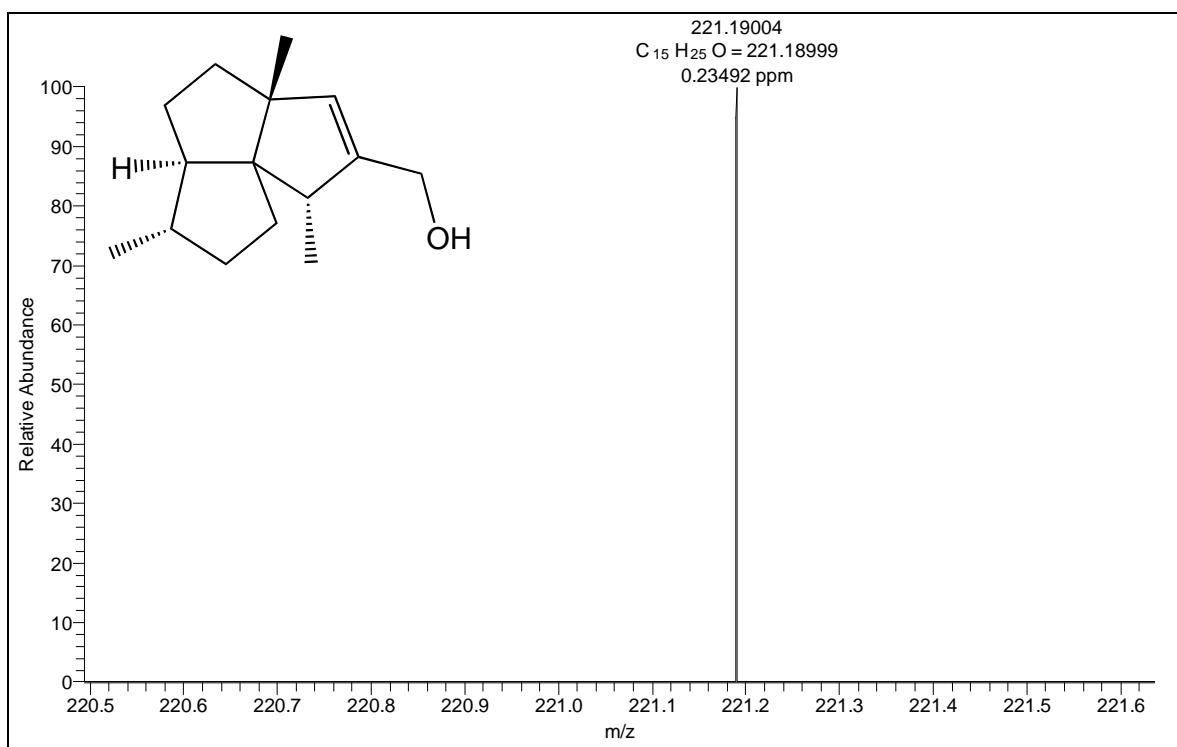


FIGURA 104. Espectro de massas de alta resolução no modo positivo ([M+H]⁺) de **S16**.

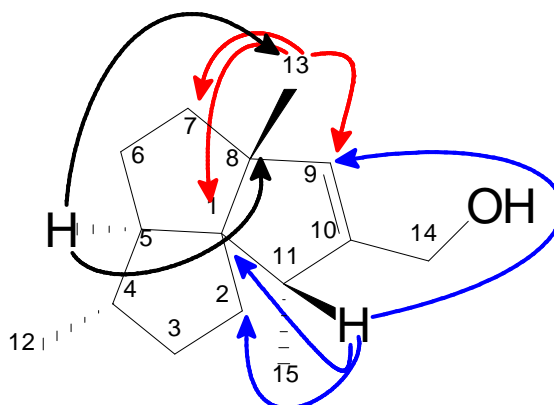
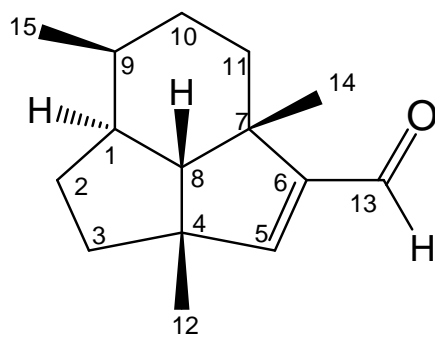
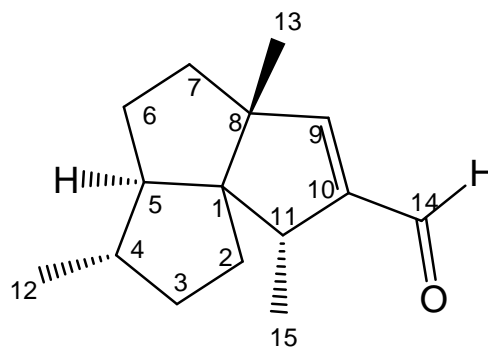
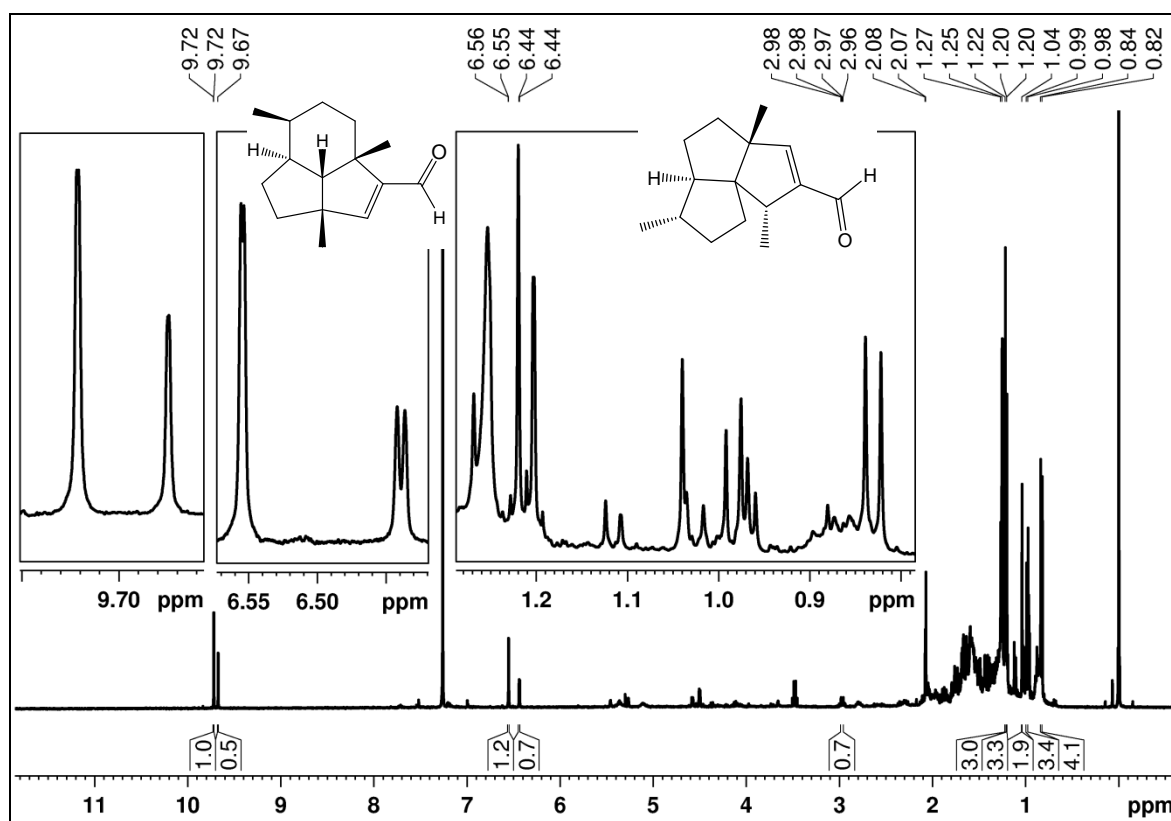


FIGURA 105. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S16**.

TABELA 28. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DE **S16** (CDCl_3 , 400 MHz) E COMPARAÇÃO COM DADOS DA LITERATURA (CDCl_3 , 500 MHz) (WANG *et al.*, 2002)

Pos.	S16			Subergorgiol	
	δ_{H} ; mult. (J em Hz)	δ_{C}	$^{\text{LD}}J_{\text{H,C}}$	δ_{H} ; mult. (J em Hz)	δ_{C}
1	-	65,4	-	-	64,1
2a	1,67 <i>m</i>	34,7	1,5	1,75 <i>ddd</i> (13,0:5,5:2,0)	28,9
2b	1,54 <i>m</i>		1,11	1,26 <i>td</i> (12,5:5,5)	
3a	1,38 <i>m</i>	30,1	4	1,08 <i>dd</i> (11,0:5,5)	35,8
3b	1,42 <i>m</i>		12	1,69 <i>ddd</i> (11,5:5,5:2,5)	
4	1,43 <i>m</i>	42,6	3	1,33 <i>m</i>	39,7
5	1,85 <i>ddd</i> (7,5:7,1:0,7)	52,4	1,6,8,11,13	1,49 <i>m</i>	64,9
6a	1,58 <i>m</i>	37,5	1,5	1,51 <i>m</i>	29,9
6b	1,41 <i>m</i>		4,8	1,21 <i>dd</i> (11,0:5,5)	
7a	1,65 <i>m</i>	36,1	1,8	1,59 <i>dd</i> (11,0:5,5)	37,6
7b	1,15 <i>m</i>		13	1,44 <i>dd</i> (11,0:6,0)	
8	-	56,8	-	-	57,3
9	5,22 <i>ddd</i> (2,3:1,3:1,2)	134,3	1,8,11,14	5,27 <i>s</i>	134,0
10	-	144,6	-	-	146,7
11	2,80 <i>qddd</i> (7,5:2,3:1,1:0,9)	48,6	1,2,9,10,15	2,52 <i>q</i> (7,5)	50,9
12	0,97 <i>d</i> (6,6)	20,3	4,5	0,99 <i>d</i> (7,0)	20,0
13	0,97 <i>s</i>	19,7	1,7,8,9	1,00 <i>s</i>	22,9
14a	4,05 <i>ddd</i> (13,9:1,3:1,1)	60,8	9,10,11	4,19 <i>q</i> (14)	61,3
14b	4,11 <i>ddd</i> (13,9:1,2:0,9)		9,10,11		
15	1,04 <i>d</i> (7,3)	14,1	1,10,11	0,97 <i>d</i> (7,0)	17,7

As substâncias **S17** e **S18** foram isoladas em mistura. A pequena quantidade obtida (1,3 mg) e a sua rápida decomposição impediram uma posterior separação, mas uma proposta estrutural foi feita com base nos dados obtidos. O espectro de RMN de ^1H da mistura (Figura 106; página 161) apresentou-se muito semelhante aos das substâncias **S14**, **S15** e **S16** diferindo principalmente pela presença de dois simpletos em δ 9,67 (H-14) e 9,72 (H-13), integrando para 1 e 0,5 hidrogênios, respectivamente, e ausência de sinais de hidrogênios oximetilênicos. No espectro de RMN de ^1H a substância majoritária mostrou sinais de três grupos metila, sendo um duplete em δ 0,83 ($J=6,7$ Hz, H-15) e dois simpletos em δ 1,20 (H-14) e 1,22 (H-12), além de um duplete de um hidrogênio olefínico (δ 6,55, $J=0,9$ Hz, H-5). No mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (Figuras 107; página 162) estes hidrogênios estavam associados aos carbonos em δ 15,4 (C-15), 24,9 (C-14), 27,0 (C-12) e 161,5 (C-5), respectivamente. Por comparação com os deslocamentos químicos de **S14** e **S15** foi deduzido que essa substância tinha o esqueleto leucotrichano. No mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (Figura 108; página 162) pode-se visualizar que o hidrogênio em δ 6,55 (H-5) faz correlação com os carbonos em δ 46,7 (C-7), 52,5 (C-4), 58,5 (C-8), 149,9 (C-6) e 191,5 (C-13). Considerando as demais correlações foi proposta a estrutura **S17** para essa substância, que foi denominada leucotrichanal. Voltando à substância minoritária, foram observados no espectro de RMN de ^1H sinais de três grupos metila, sendo um simpleto em δ 1,04 (H-13) e dois dupletos em δ 0,97 ($J=6,7$ Hz - H-12) e 1,27 ($J=7,3$ Hz - H-15), além do sinal de um hidrogênio olefínico em δ 6,44 (d , $J=2,3$ Hz - H-9). O mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C mostrou que estes hidrogênios estavam ligados aos carbonos em δ 19,6 (C-13), 19,4 (C-12), 24,9 (C-15) e 162,0 (C-9), respectivamente. Por comparação com **S16**, esses dados definiram o esqueleto carbônico 11-*epi*-silphiperfoleno. As poucas correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (Tabela 29; página 163; Figura 109; página 163) confirmaram a estrutura dessa substância **S18**, como um aldeído inédito denominado 11-*epi*-silphiperfolenal.

**S17****S18**FIGURA 106 .Espectro de RMN de ^1H de **S17** + **S18** com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz).

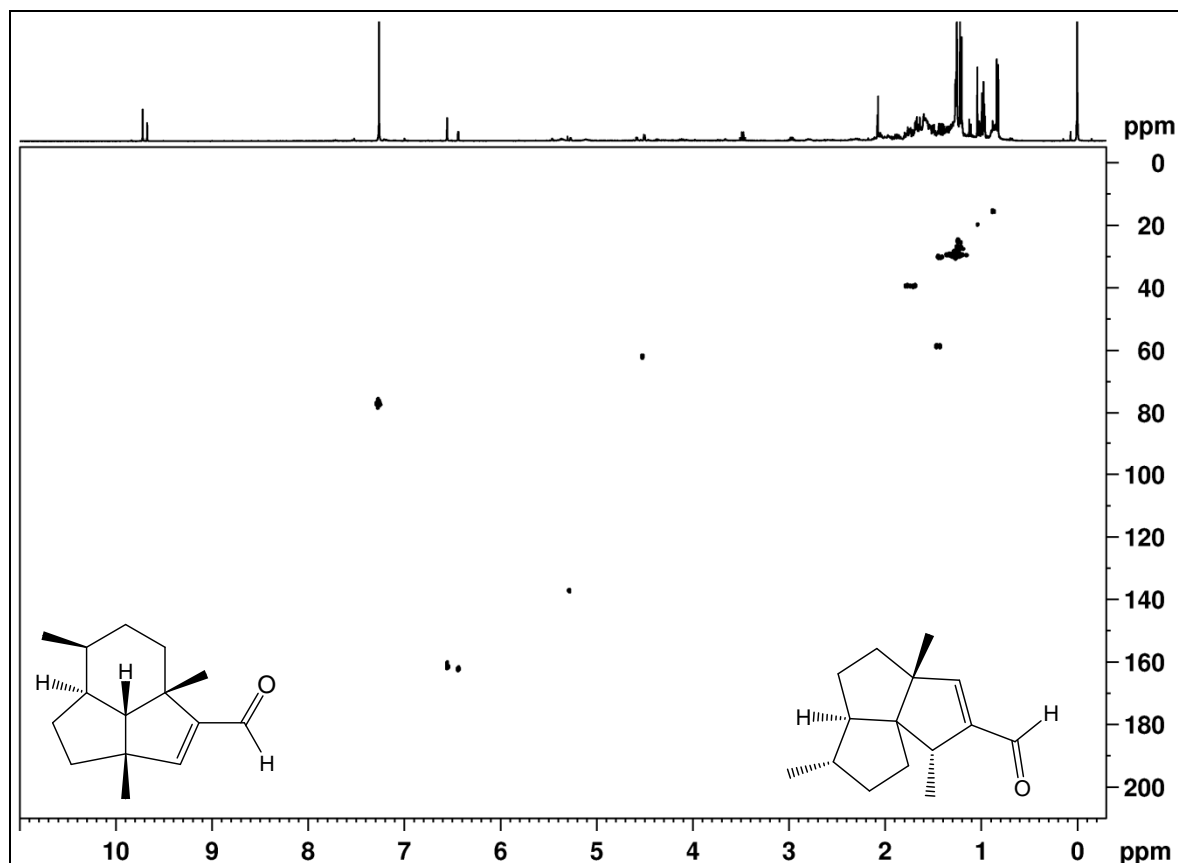


FIGURA 107. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S17** + **S18** (CDCl_3 , 400 MHz).

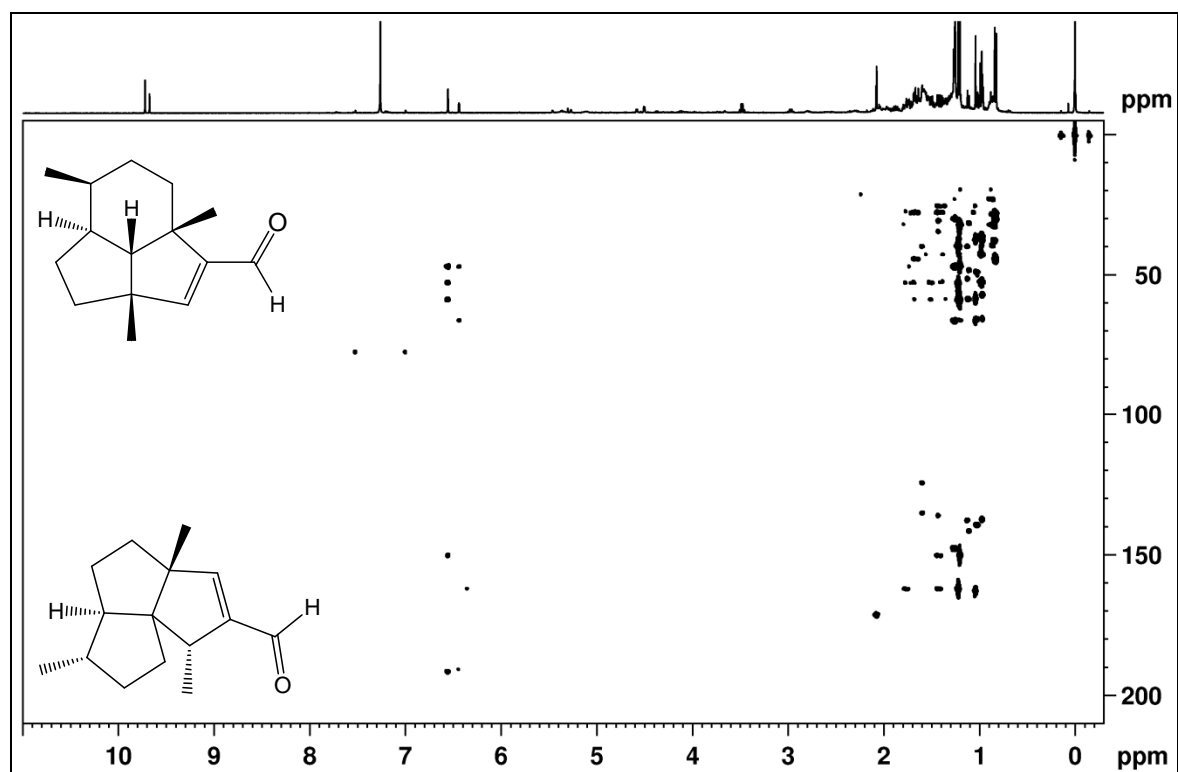


FIGURA 108. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S17** + **S18** (CDCl_3 , 400 MHz).

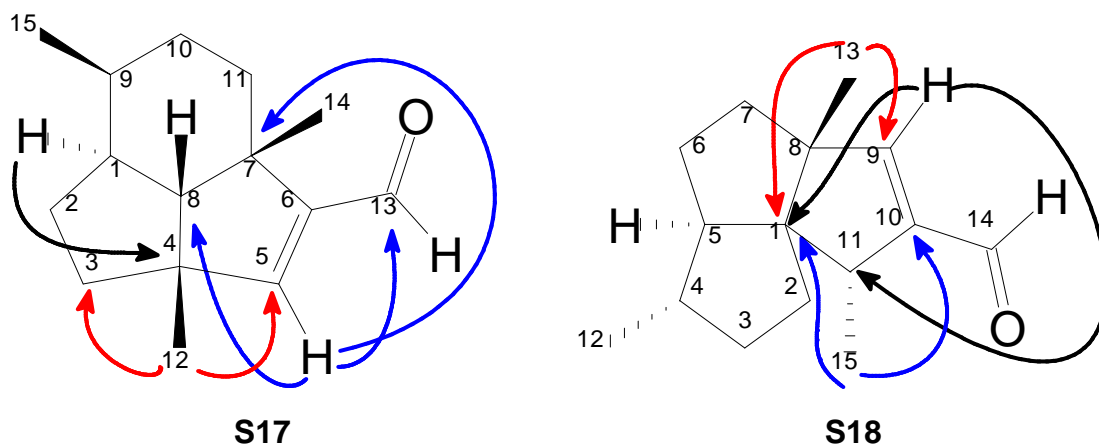


FIGURA 109. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S17** + **S18**.

TABELA 29. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DE **S17** E **S18** (CDCl_3 , 400 MHz).

Posição	S17			S18		
	δ_{H} ; mult. (J em Hz)	δ_{C}	$^{\text{LD}} J_{\text{H,C}}$	δ_{H} ; mult. (J em Hz)	δ_{C}	$^{\text{LD}} J_{\text{H,C}}$
1	1,77 <i>m</i>	44,1	2,4	-	66,1	-
2	N.O.	27,8	N.O.	N.O.	N.O.	N.O.
3	N.O.	39,3	N.O.	N.O.	36,1	N.O.
4	-	52,5	-	N.O.	42,4	N.O.
5	6,55 <i>d</i> (0,9)	161,5	4,6,7,8,13	N.O.	52,4	N.O.
6	-	149,9	-	N.O.	N.O.	N.O.
7	-	46,7	-	N.O.	37,3	N.O.
8	1,43 <i>d</i> (12,6)	58,5	5,6,12,14	-	58,4	-
9	1,90 <i>m</i>	27,4	N.O.	6,44 <i>d</i> (2,3)	162,0	1,8,11,14
10	N.O.	29,5	N.O.	-	147,5	-
11	N.O.	31,9	N.O.	2,97 <i>dq</i> (7,3:2,3)	46,9	10
12	1,22 <i>s</i>	27,0	3,4,5,8	0,97 <i>d</i> (6,7)	19,4	3,4,5
13	9,72 <i>d</i> (0,4)	191,5	N.O.	1,04 <i>s</i>	19,6	1,7,8,9
14	1,20 <i>s</i>	24,9	4,7,8,11	9,67 <i>sl</i>	190,6	N.O.
15	0,83 <i>d</i> (6,7)	15,4	1,9,10	1,27 <i>d</i> (7,3)	24,9	1,10,11

N.O. - Não observado.

As substâncias **S19** e **S20** foram isoladas juntas, e se mostraram inseparáveis nas análises por CCDA em gel de sílica e alumina. Entretanto, os seus espectros de RMN revelaram ser uma mistura de duas substâncias, pois apresentaram duplicidade de sinais, com intensidades diferentes. O espectro de RMN de ^1H da mistura (Figura 110; página 165) apresentou apenas sinais na região de hidrogênios alifáticos, entre δ 0,8 e 2,0, como as substâncias anteriores. Nesse espectro a

substância majoritária apresentou sinais de quatro grupos metila sendo eles em δ 1,32 (s, H-13), 1,26 (s, H-15), 1,00 (s, H-12) e 0,84 (d, $J=7,0$ Hz - H-14). Os demais sinais são difíceis de serem diferenciados, pois há muita sobreposição. No mapa de correlação ^1H - ^{13}C a uma ligação (Figura 112; página 166) esses grupos metilas apresentam correlação direta com os carbonos em δ 27,6 (C-13), 30,2 (C-15), 28,9 (C-12) e 15,6 (C-14), respectivamente. Analisando as intensidades dos sinais dos carbonos no espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ sobreposto ao DEPT-135 (Figura 111; página 166), foi possível determinar que a substância majoritária apresenta quatro carbonos metílicos em δ 15,6 (C-14), 27,6 (C-13), 28,9 (C-12) e 30,2 (C-15), cinco metilênicos em δ 25,3 (C-9), 31,6 (C-5), 35,3 (C-4), 37,0 (C-8) e 42,0 (C-1), três metínicos em δ 41,5 (C-7), 56,5 (C-10) e 61,0 (C-2) e três carbonos quaternários em δ 43,4 (C-11), 54,1 (C-6) e 75,1 (C-3). O grupo metila em δ 1,32 (H-13), no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (Figura 113; página 167), apresentou correlação com os carbonos em δ 28,9 (C-12), 43,4 (C-11), 56,5 (C-10), e 61,0 (C-2), enquanto que os hidrogênios em δ 0,84 (H-14) mostraram correlação com os carbonos em δ 37,0 (C-8), 41,5 (C-7) e 54,1 (C-6). Também pode ser observado nesse experimento, que os hidrogênios em δ 1,00 (H-12) fazem correlação a longa distância com os carbonos em δ 27,6 (C-13), 43,4 (C-11), 56,5 (C-10) e 61,0 (C-2), e que os hidrogênios em δ 1,26 (H-15) fazem correlação com os carbonos em δ 35,3 (C-4), 61,0 (C-2) e 75,1 (C-3) (Tabela 30; página 168; Figura 114; página 167). Esses dados sugeriram um álcool sesquiterpênico com fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$, compatível com três graus de insaturação. Como não há sinais de hidrogênios ou carbonos olefínicos, essa substância deve ser tricíclica. Foram comparados os dados obtidos com aqueles da literatura (BROWN *et al.*, 2003), o que levou à identificação de **S19** como sendo o sesquiterpeno cedrol. A substância minoritária também apresentou sinais de quatro grupos metila em δ 1,30 (s, H-13), 1,27 (s, H-15), 0,97 (s, H-12) e 0,85 (d, $J=6,6$ Hz - H-14). Pela similaridade de deslocamento químico dos demais sinais, o segundo componente deve ser um estereoisômero do cedrol. Comparando os deslocamentos químicos dos sinais remanescentes no espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ com os sinais atribuídos ao cedrol, nota-se que C-1, C-2, C-8 e C-14 estão mais protegidos em relação ao cedrol (de 7,5, 1,9, 1,9 e 1,5 ppm, respectivamente) enquanto que C-5, C-6 e C-11 estão mais desprotegidos (de 3,5, 1,9 e 1,4 ppm, respectivamente). Estas variações estão de acordo com os

dados de alguns cedranos com estereoquímica invertida, em relação ao cedrol, em C-2/C-6/C-7 (BARRERO *et al.*, 2000). Portanto, o segundo constituinte da mistura deve ser 2,6,7-tri-*epi*-cedrol (**S20**), um diastereoisômero do cedrol, que é inédito na literatura.

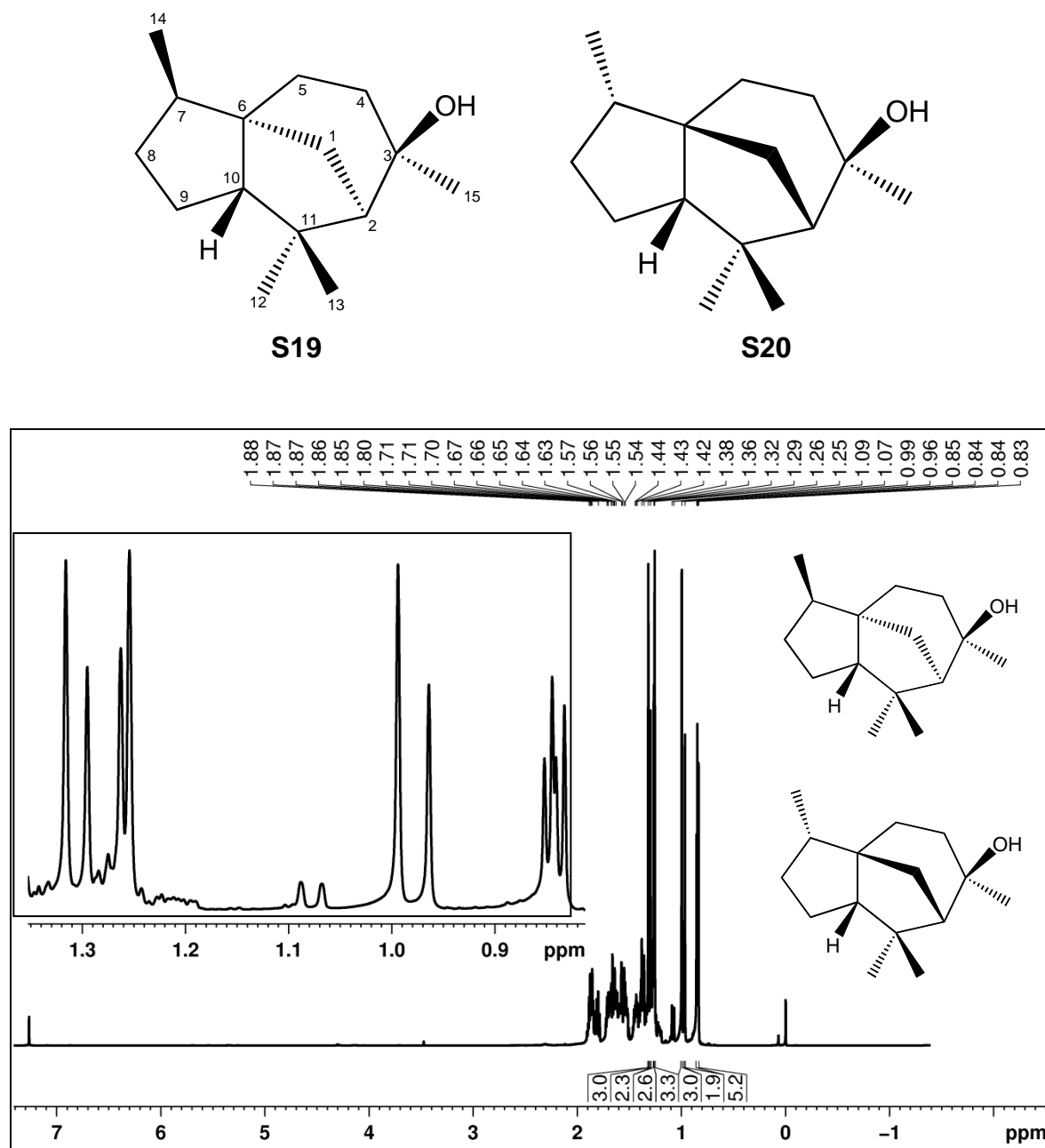


FIGURA 110. Espectro de RMN de ^1H de **S19** + **S20** com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz).

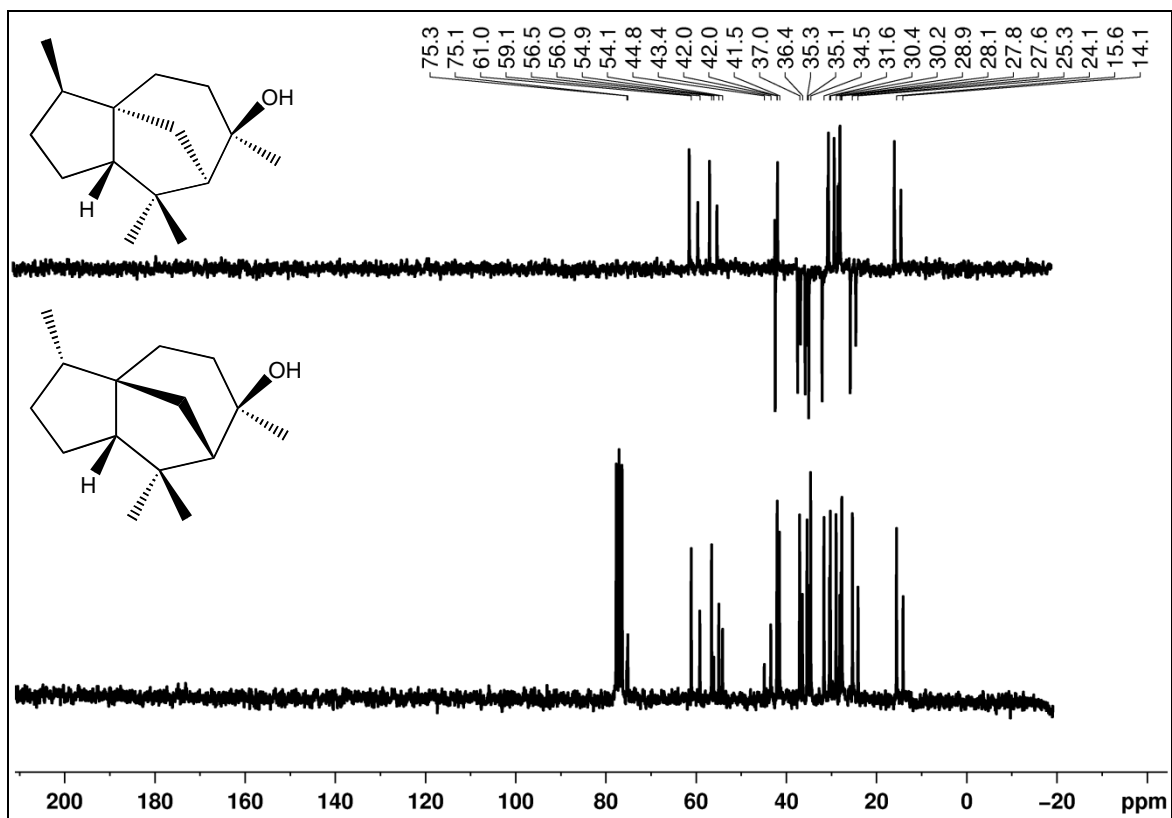


FIGURA 111. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ sobreposto com DEPT-135 de **S19** + **S20** (CDCl_3 , 50 MHz).

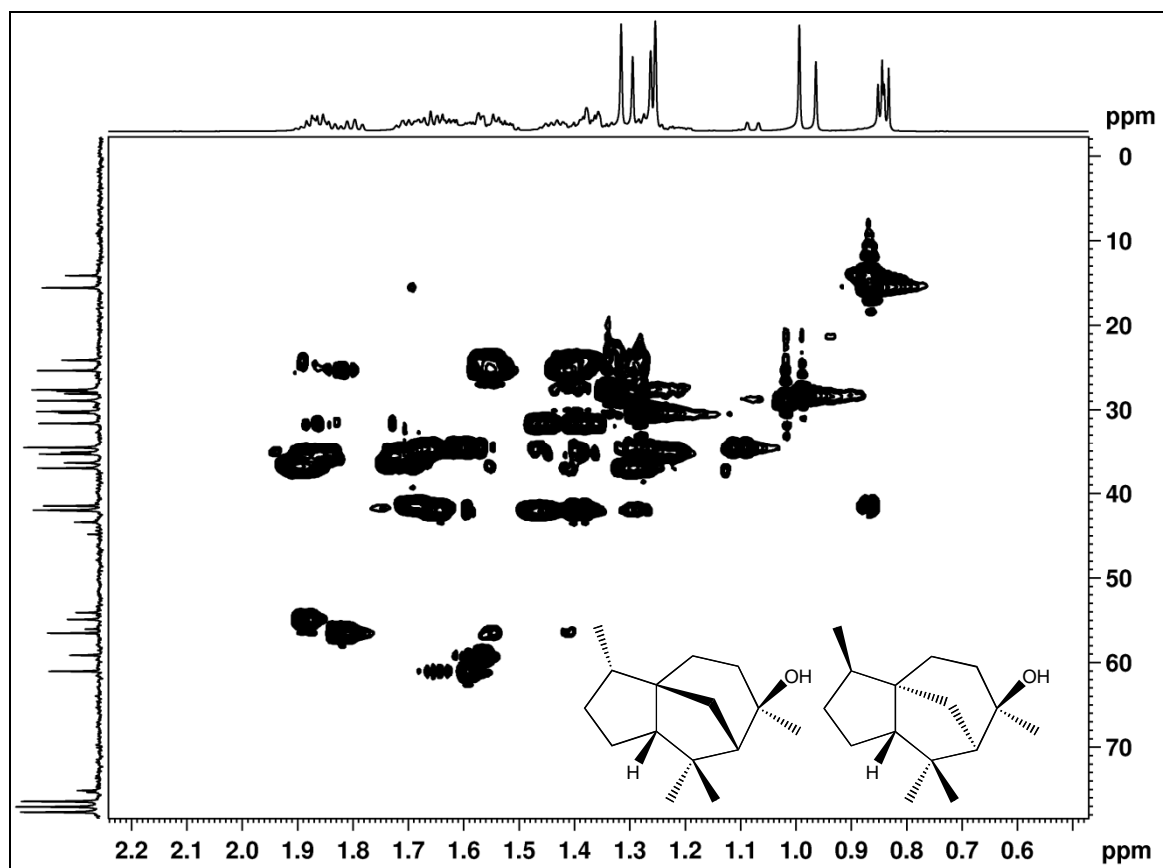


FIGURA 112. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S19** + **S20** (CDCl_3 , 400 MHz).

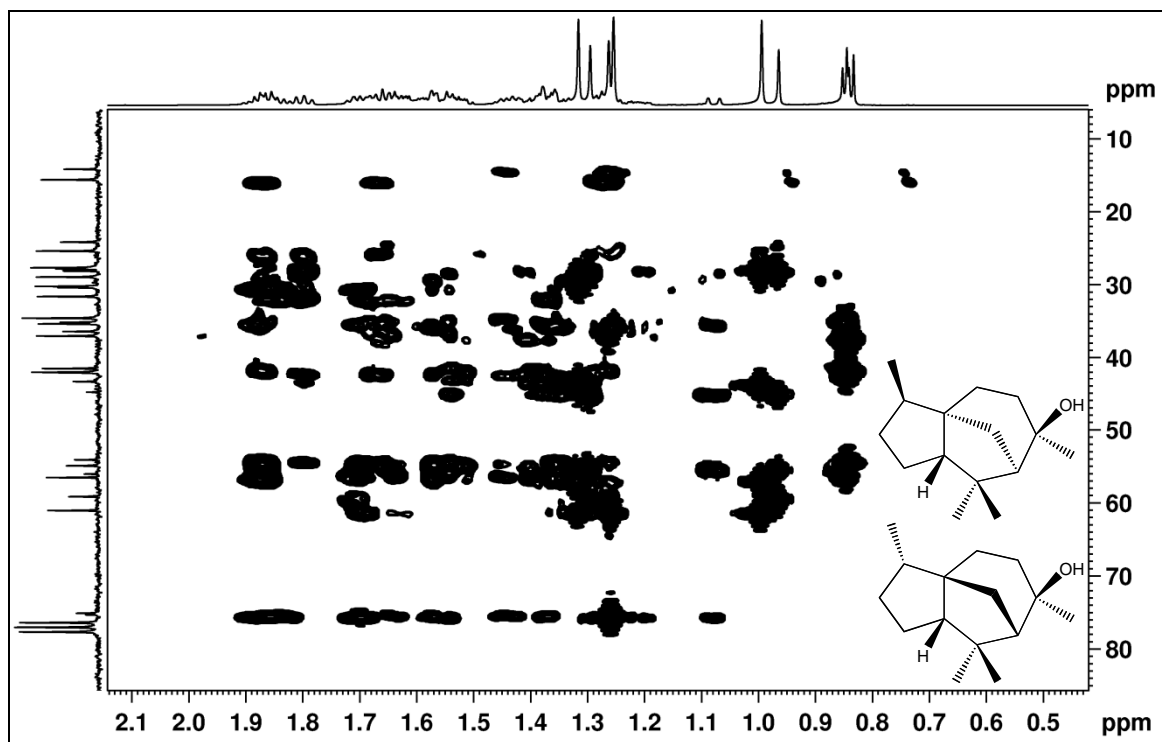


FIGURA 113. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S19** + **S20** (CDCl_3 , 400 MHz).

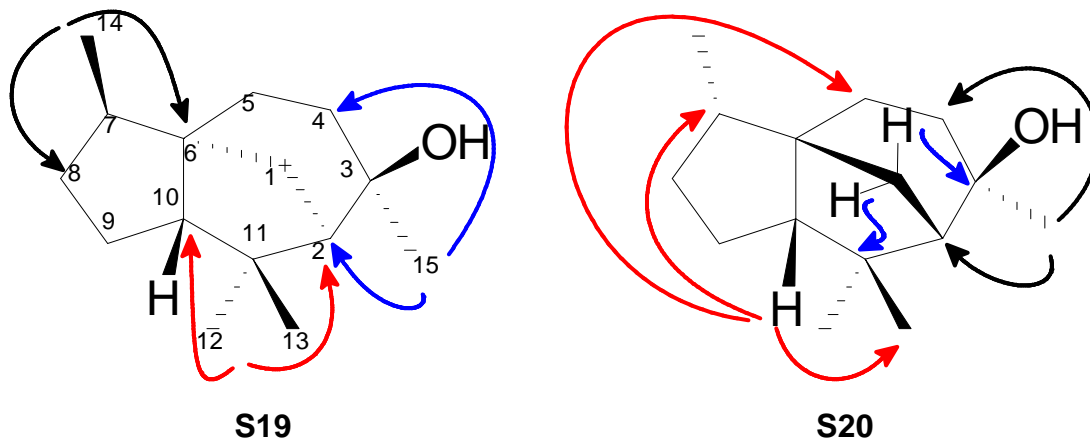


FIGURA 114. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S19** + **S20**.

TABELA 30. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DE **S19** E **S20** (CDCl_3 , 600 MHz).

Posição	δ_{H} ; mult. (J em Hz)	δ_{C}	δ_{H} ; mult. (J em Hz)	δ_{C}	^{LD} J _{H,C}
	S19		S20		
1	1,65; 1,36 <i>m</i>	42,0	1,08 <i>d</i> (12,1); 1,56 <i>m</i>	34,5	2,3,4,11
2	1,58 <i>m</i>	61,0	1,54 <i>m</i>	59,1	3,4,6,11,12
3	-	75,1	-	75,3	-
4	1,78 <i>m</i>	35,3	N.D.	36,4	5,6
5	1,38 <i>m</i>	31,6	N.D.	35,1	10
6	-	54,1	-	56,0	-
7	1,69 <i>m</i>	41,5	N.D.	42,0	6
8	1,88; 1,29 <i>m</i>	37,0	N.D.	35,1	6,10
9	1,54; 1,37 <i>m</i>	25,3	N.D.	24,1	10,11
10	1,80 <i>m</i>	56,5	1,87 <i>m</i>	54,9	5,7,13
11	-	43,4	-	44,8	-
12	1,00 <i>s</i>	28,9	0,97 <i>s</i>	28,1	2,10,11,13
13	1,32 <i>s</i>	27,6	1,30 <i>s</i>	27,8	2,10,11,12
14	0,84 <i>d</i> (7,0)	15,6	0,85 <i>d</i> (6,6)	14,1	6,7,8
15	1,26 <i>s</i>	30,2	1,27 <i>s</i>	30,4	2,3,4

N.D. – Não definido devido à sobreposição dos sinais.

A obtenção de sesquiterpenos foi surpreendente porque a ocorrência desses compostos em Gesneriaceae foi registrada até o momento apenas no gênero *Aeschynanthus*, que é nativo do velho mundo (Ásia, África, Europa e Oceania). Além disso, os sesquiterpenos de *Aeschynanthus* são do tipo eudesmano, que tem ampla ocorrência entre as angiospermas.

A produção de um grande número de sesquiterpenos tricíclicos parece distinguir as duas espécies de outras sinningias previamente estudadas pelo nosso grupo e que pertenciam aos clados *Corytholoma* (*S. warmingii*, *S. aggregata* e *S. allagophylla*) ou *Sinningia* (*S. speciosa*). Nesta última nenhum sesquiterpeno foi detectado, enquanto que nas espécies do clado *Corytholoma* foram registrados poucos sesquiterpenos. É possível que a biossíntese de sesquiterpenos seja mais ativada nas espécies do clado *Dircaea*, diferenciando-as das espécies dos demais clados. O estudo de outras espécies poderá confirmar essa hipótese.

Embora sesquiterpenos sejam abundantes em *S. canescens* e *S. leucotricha*, apenas a segunda continha substâncias com o novo esqueleto leucotrichano. É notável que o álcool leucotrichol tenha sido encontrado nas três coletas de *S.*

leucotricha, levando a sugestão de que essa substância poderia ser um marcador químico da espécie.

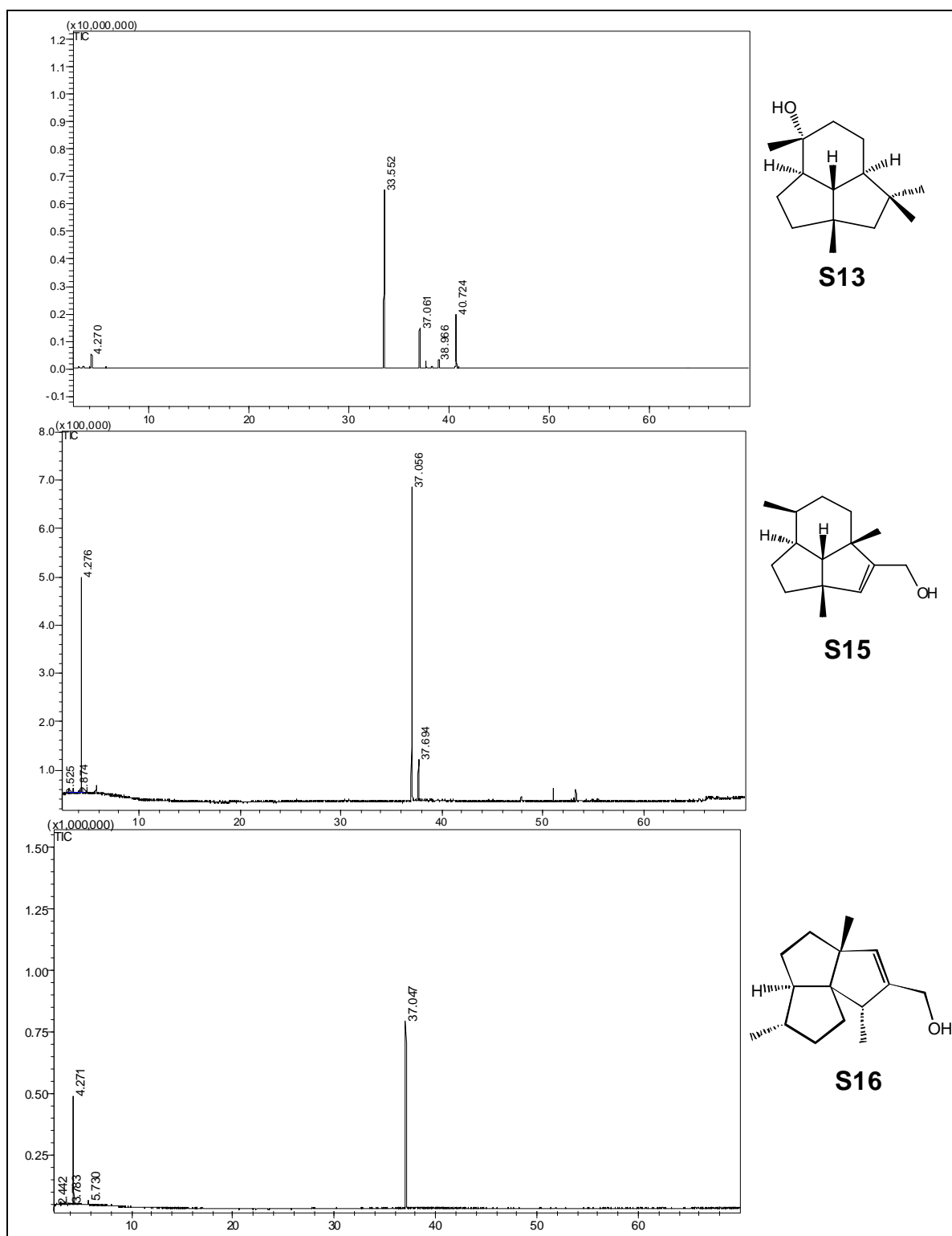
4.4.1. Análise por CG-EM dos sesquiterpenos

A identificação de sesquiterpenos por CG pode ser realizada pela comparação do índice de retenção e do espectro de massas com dados publicados (Ex. ADAMS, 2007) e bancos de dados eletrônicos presentes nos equipamentos, usando a fórmula (2) (página 58). A fim de gerar informações para a identificação em mistura, alguns dos sesquiterpenos obtidos foram analisados por CG-EM, usando as condições analíticas empregadas por ADAMS (2007).

O cromatograma de **S16** (11-*epi*-subergorgiol) (Figura 115; página 171) apresentou apenas um pico em 37,047 minutos, correspondente a um índice de retenção de 1606. O espectro de massas dessa molécula (Figura 118; página 174) mostra o íon molecular com m/z 220, o que está em acordo com a estrutura proposta para esta molécula. A fragmentação dessa molécula também confirma a estrutura, pois aparece o pico de perda de H_2O com m/z 202 ($[M-H_2O]^+$), que é uma quebra que ocorre comumente em álcoois que apresentam um hidrogênio em γ ou δ em relação à hidroxila (Figura 116; página 172). O próximo pico com m/z 189 é a perda de $CH_2=OH^+$, que prova a existência de um álcool primário (Figura 116; página 172). Os outros picos de fragmentação são mais difíceis de serem interpretados, mas a fórmula molecular dessas perdas foi sugerida, como para m/z 161 ($[M-C_3H_7O]^+$), 148 ($[M-C_4H_8O]^+$), 135 ($[M-C_5H_9O]^+$), 119 ($[M-C_6H_{13}O]^+$), 105 ($[M-C_7H_{15}O]^+$), 91 ($[M-C_8H_{17}O]^+$, íon tropílio), 79 ($[M-C_9H_{17}O]^+$), 55 ($[M-C_{11}H_{17}O]^+$).

A substância **S15** teve seu cromatograma registrado de uma fração que continha também a substância **S16** (Figura 115; página 171), mas sabendo qual é o pico referente a este, sabe-se qual é aquele do leucotrichol (**S15**). Seu pico eluiu em 37,694 minutos (IR = 1623) e seu espectro de massas (Figura 118; página 174) apresentou o pico do íon molecular com m/z 220, o que corresponde à massa do leucotrichol. O primeiro pico de fragmentação é o m/z 202 que é o pico de perda de água ($[M-H_2O]^+$), depois tem os picos com m/z 191 ($[M-CHO]^+$), 163 ($[M-C_3H_5O]^+$), 147 ($[M-C_4H_9O]^+$), 133 ($[M-C_5H_{11}O]^+$), 119 ($[M-C_6H_{13}O]^+$), 105 ($[M-C_7H_{15}O]^+$), 91 ($[M-C_8H_{17}O]^+$), 79 ($[M-C_9H_{17}O]^+$), 53 ($[M-C_{11}H_{19}O]^+$).

O cromatograma da substância **S13** (Figura 115; página 171) mostrou que ela não estava pura, mas foi possível identificar seu pico, que é o majoritário ($t_R = 33,552$), pois apresentou um IR de 1516, e o espectro de massas com um íon molecular com m/z 222 (Figura 118; página 174), equivalente ao de **S13**. A fragmentação dessa substância mostra que o primeiro pico (m/z 204) é referente à perda de H_2O ($[M-H_2O]^+$), o segundo pico com m/z 189 é relativo a perda de uma unidade de metila ($[M-H_2O-CH_3]^+$). Os demais fragmentos foram interpretados da seguinte maneira: m/z 161 ($[M-H_2O-2(CH_3)]^+$), 148 ($[M-C_4H_{10}O]^+$), 133 ($[M-C_4H_{10}O-CH_3]^+$), 124 ($[M-C_6H_{10}O]^+$), 109 ($[M-C_7H_{13}O]^+$), 105 ($[M-C_9H_9]^+$), 95 ($[M-C_8H_{15}O]^+$), 91 ($[M-C_9H_7O]^+$), 81 ($[M-C_9H_{17}O]^+$), 79 ($[M-C_{10}H_7O]^+$), 67 ($[M-C_{11}H_7O]^+$), 55 ($[M-C_{11}H_{19}O]^+$). Nesta fração também foi possível identificar a presença de **S16** ($t_R = 37,061$) e **S15** ($t_R = 37,693$).

FIGURA 115. Cromatogramas das substâncias **S13**, **S15** e **S16**.

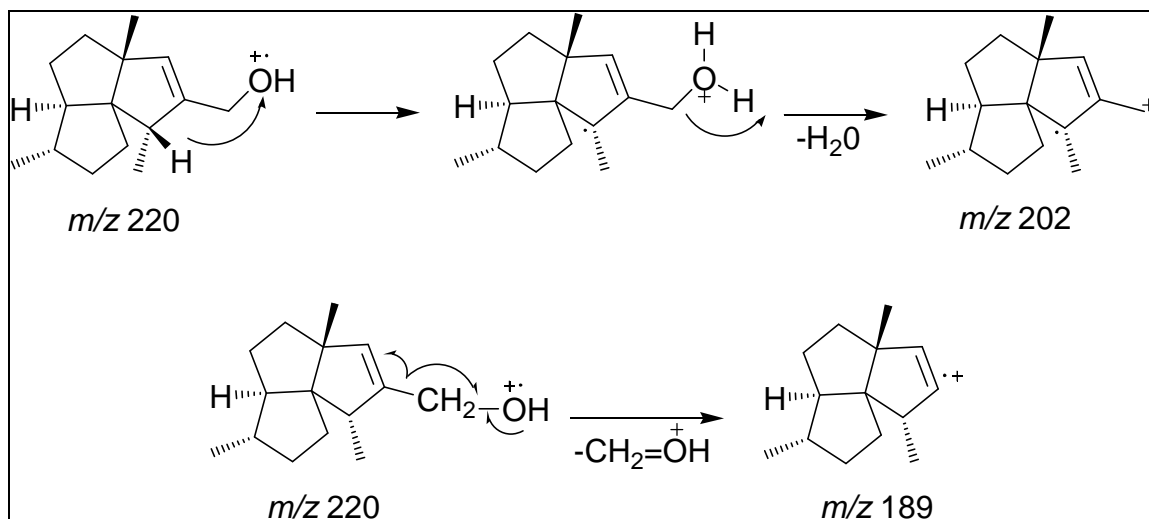


FIGURA 116. Propostas de fragmentação do íon m/z 220 para formação dos íons m/z 202 e 189 de **S16**.

O cromatograma da mistura **S17** + **S18** (Figura 117; página 173) apresentou um pico principal, além de outros minoritários. O composto majoritário eluiu em 21,683 minutos (IR = 1645) e seu espectro de massas possui o pico do íon molecular com m/z 218 (Figura 118; página 174), o qual equivale a massa dos dois aldeídos presentes na mistura, e nenhum outro pico apresentou um espectro de massas semelhante à este, portanto esses dois compostos coeluíram. A fragmentação desta molécula sugere a saída de um grupo metila originando o fragmento com m/z 203 e outros fragmentos mais difíceis de serem atribuídos, mas suas fórmulas moleculares foram sugeridas. Por exemplo, em m/z 175 pode ser sugerida a saída do grupo $C_2H_3O^+$, em m/z 161 de $C_3H_5O^+$, em m/z 147 de $C_4H_7O^+$, em m/z 133 de $C_5H_9O^+$, em m/z 119 de $C_6H_{11}O^+$, em m/z 105 de $C_7H_{13}O^+$, em m/z 91 de $C_8H_{15}O^+$, em m/z 79 de $C_9H_{15}O^+$ e em m/z 55 de $C_{11}H_{15}O^+$.

O cromatograma da mistura **S19** + **S20** mostrou apenas dois picos muito próximos, eluindo em 35,659 e 36,139 minutos (Figura 117; página 173). O pico majoritário é aquele com maior tempo de retenção e corresponde a um IR de 1594, o que é compatível com o cedrol (**S19**) (ADAMS, 2007) (Figura 118; página 174). Portanto, o outro pico (t_R = 35,659) deve ser o 2,6,7-tri-*epi*-cedrol (**S20**), com um IR de 1582 e espectro de massas (Figura 118; página 174) muito semelhante ao do cedrol, o que é esperado, já que as duas moléculas são diastereoisômeros. Pela fragmentação dessa molécula pode-se observar que há a perda de um grupo metila com m/z 207, seguida da perda de H_2O em m/z 189. Para os outros picos foi dada a seguinte interpretação: m/z 177 ($[M-C_2H_5O]^+$), 161 ($[M-CH_3-H_2O-C_2H_4]^+$), 150 ($[M-$

$C_4H_8O^+$), 135 ($[M-C_5H_{11}O]^+$), 121 ($[M-C_6H_{13}O]^+$), 107 ($[M-C_7H_{15}O]^+$), 95 ($[M-C_8H_{15}O]^+$), 81 ($[M-C_9H_{17}O]^+$), 69 ($[M-C_{10}H_{17}O]^+$), 55 ($[M-C_{11}H_{19}O]^+$).

Esses resultados contribuem para a identificação dos sesquiterpenos **S13**, **S15**, **S16**, **S17**, **S18**, **S19** e **S20** em misturas, através da cromatografia à gás acoplada a espectrometria de massas.

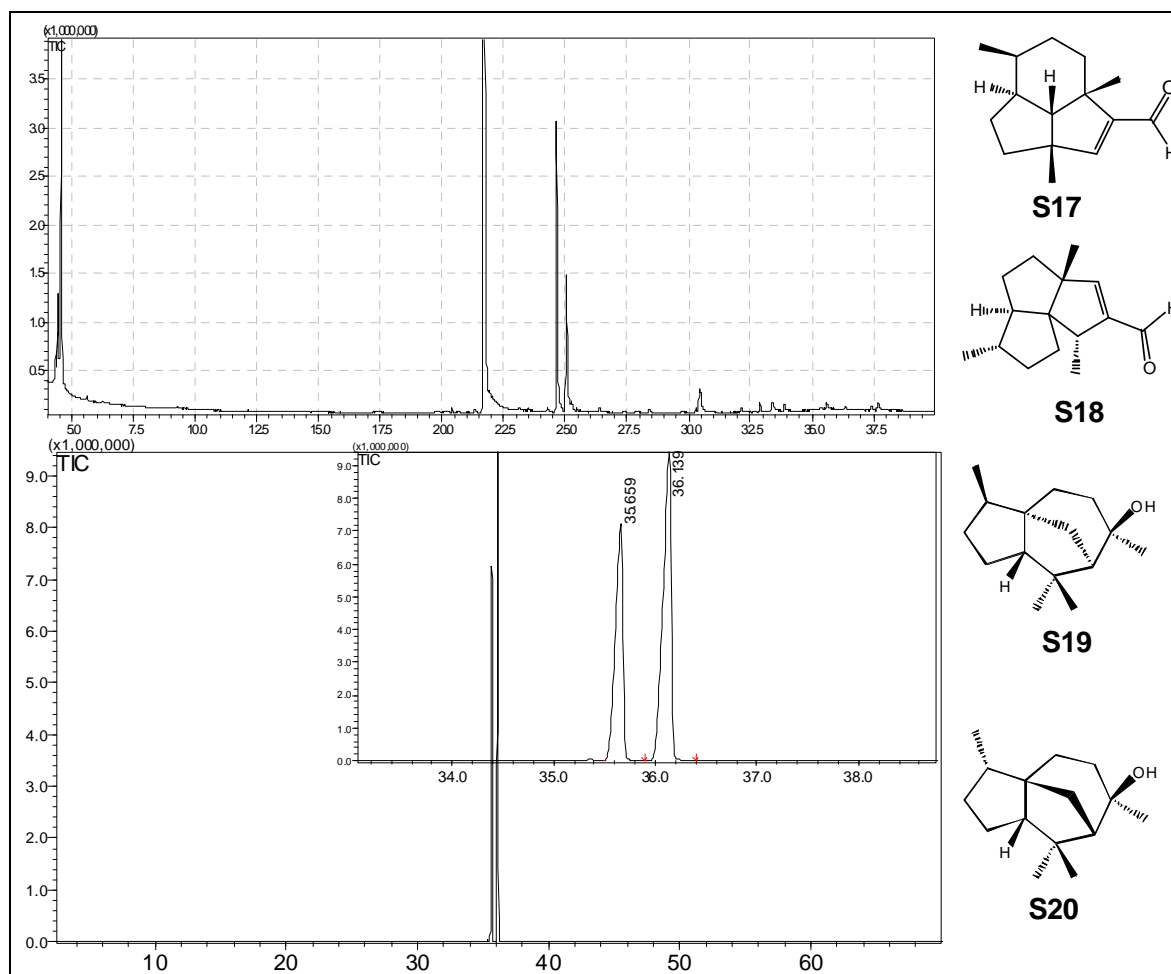


FIGURA 117. Cromatogramas das substâncias **S17** + **S18**, e **S19** + **S20**.

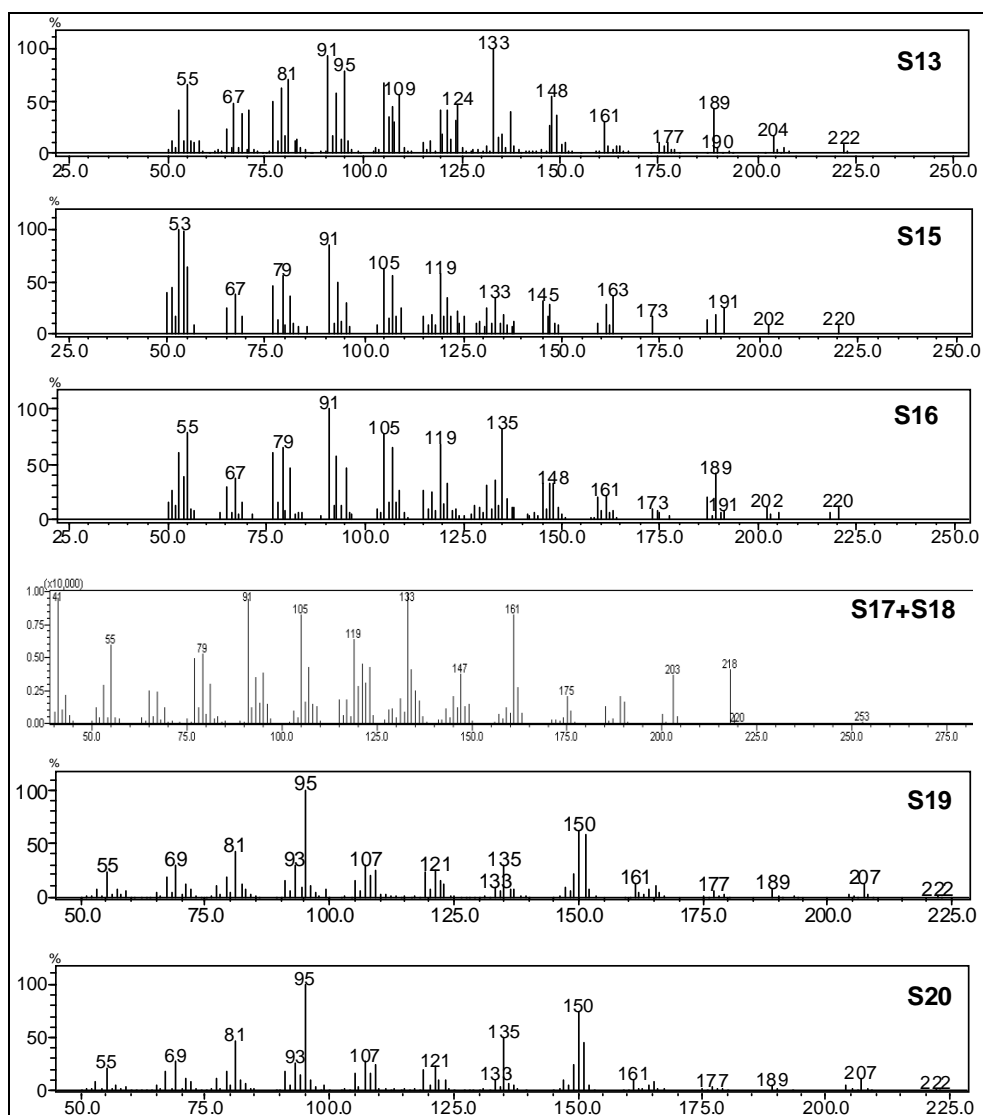
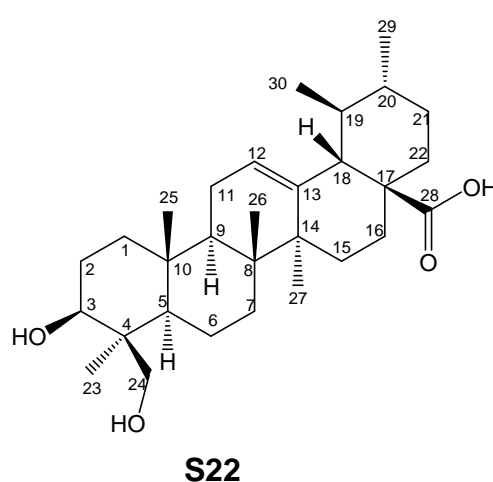
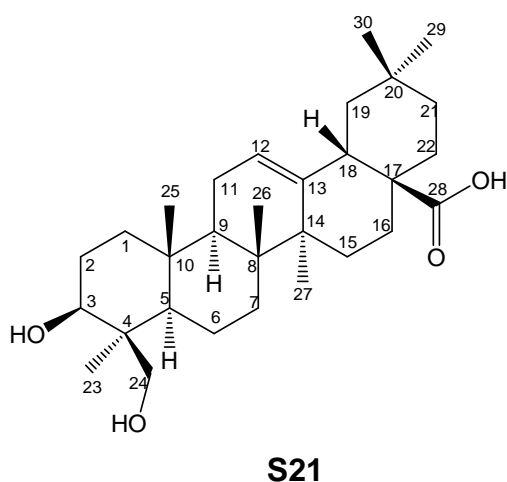


FIGURA 118. Espectros de massas referente às substâncias **S13**, **S15**, **S16**, **S17 + S18**, **S19** e **S20**.

4.5. TRITERPENOS - IDENTIFICAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS **S21**, **S22** E **S23**

As substâncias **S21** e **S22** foram isoladas em mistura como um sólido amarelado. O seu espectro de RMN de ^1H (Figura 119; página 176) apresentou muitos sinais na região de hidrogênios alifáticos (δ 2,8 a 0,7), além de sinais de hidrogênios carbinólicos (δ 3,7 a 3,3) e olefínicos (δ 5,2). Pela duplicidade apresentada em algumas regiões do espectro, principalmente dos hidrogênios olefínicos, deduziu-se a existência de uma mistura de dois triterpenos. O espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (Figura 120; página 176) apresentou, entre outros, dois sinais na

região de carbonos carbinólicos em δ 76,2 (C-3) e 70,9 (C-23), quatro carbonos olefínicos em δ 144,1, 138,4, 125,6 e 122,4 (C-12 e C-13) e duas carboxilas de ácido em δ 181,1 e 180,9 (C-28) (Tabela 31; página 178). Estas informações levam a dedução da presença de dois ácidos triterpênicos. Os deslocamentos químicos dos carbonos olefínicos em triterpenos são altamente característicos de cada esqueleto (OLEA; ROQUE, 1990). O par em δ 144,1 (C-13) e 122,4 (C-12) corresponde ao esqueleto olean-12-eno e o par em δ 138,4 (C-13) e 125,6 (C-12) corresponde ao esqueleto urs-12-eno. Pelo mapa de correlação ^1H - ^{13}C direta (Figura 121; página 177) pode-se observar que o hidrogênio em δ 5,27 (H-12) está ligado ao carbono em δ 122,4, e o hidrogênio em δ 5,24 está ligado ao carbono em δ 125,6. No mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (Figura 122; página 177) observa-se, por exemplo, que o hidrogênio em δ 3,62 (H-23) faz correlação com os carbonos em δ 11,9 (C-24), 41,8 (C-4), 49,8 (C-5), 76,2 (C-3), e o hidrogênio em δ 1,59 (H-9) faz correlação com os carbonos em δ 15,9 (C-25), 17,1 (C-26), 37,0 (C-10), 39,1 (C-8) (Figura 123; página 178). Com estas informações, e outras extraídas dos experimentos de RMN bidimensionais, além de uma pesquisa na literatura, as substâncias dessa mistura foram identificadas como hederagenina (**S21**) e ácido 23-hidroxiursólico (**S22**) (SOUSA *et al.*, 1984; FURUYA *et al.*, 1987).



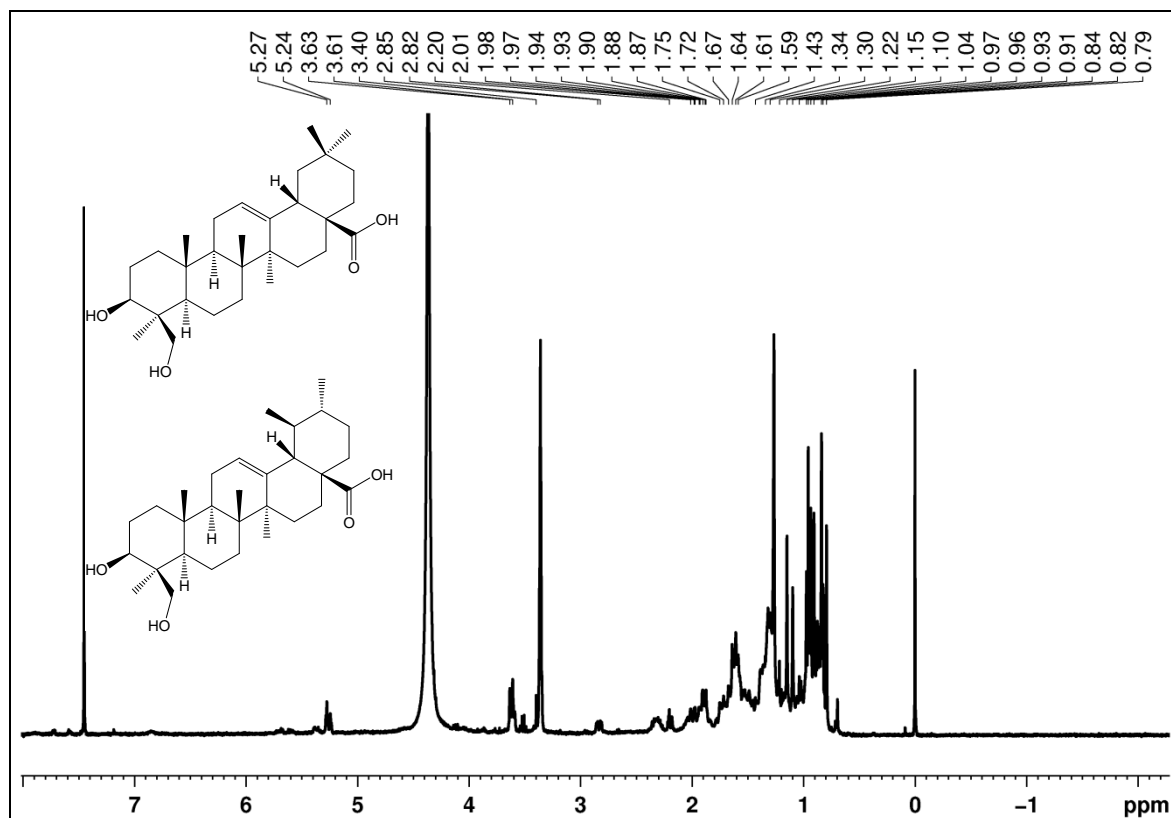


FIGURA 119. Espectro de RMN de ^1H de **S21** + **S22** com ampliações (CDCl_3 +MeOD, 400 MHz).

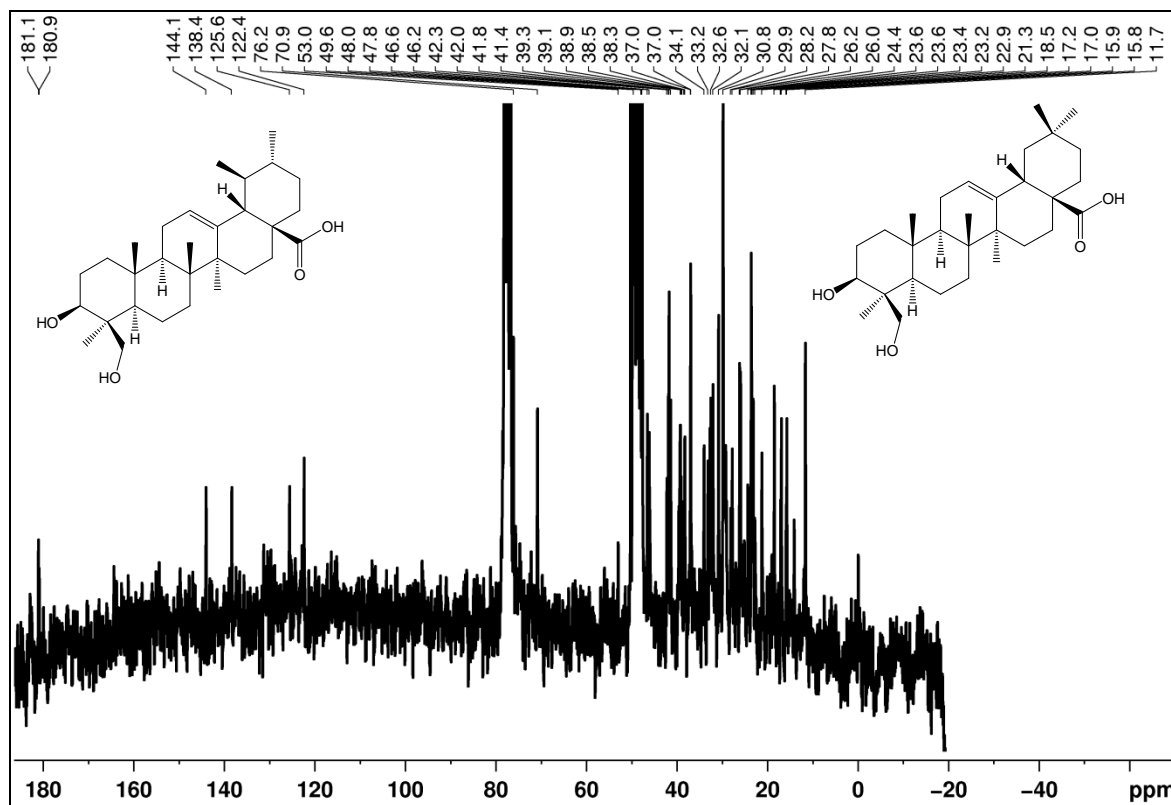


FIGURA 120. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de **S21** + **S22** (CDCl_3 +MeOD, 50 MHz).

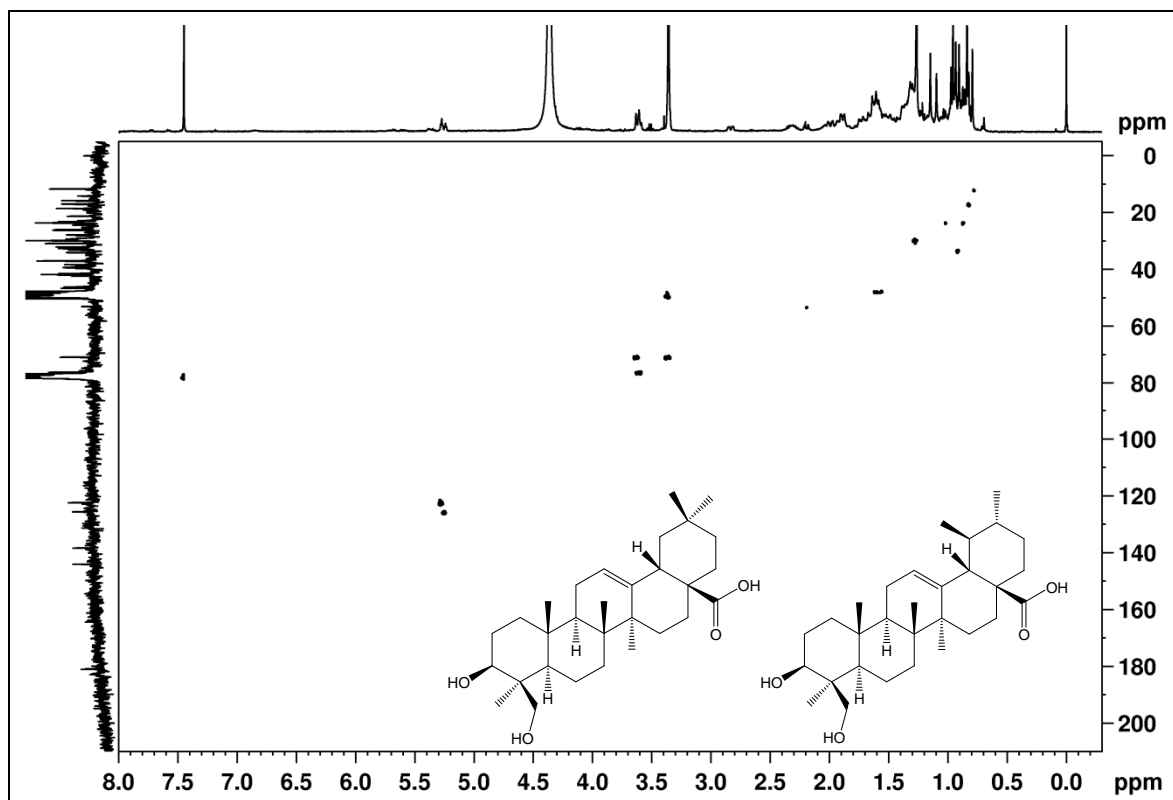


FIGURA 121. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S21** + **S22** (CDCl_3 +MeOD, 400 MHz).

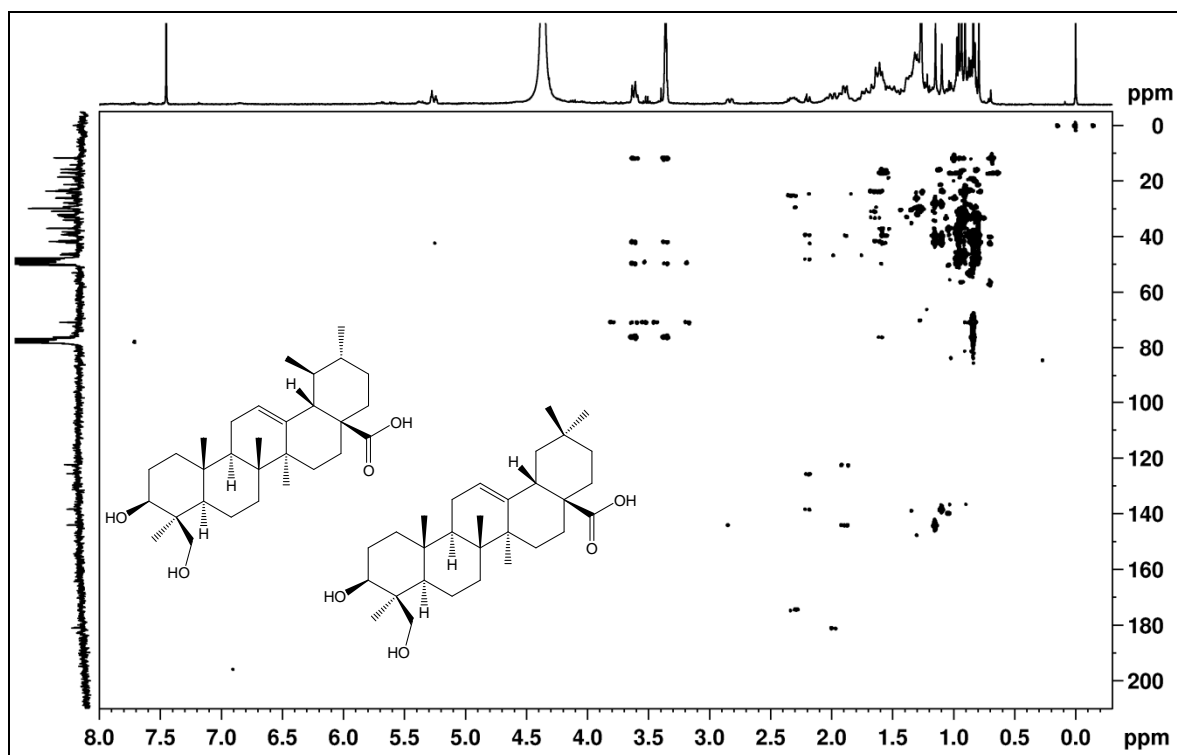


FIGURA 122. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S21** + **S22** (CDCl_3 +MeOD, 400 MHz).

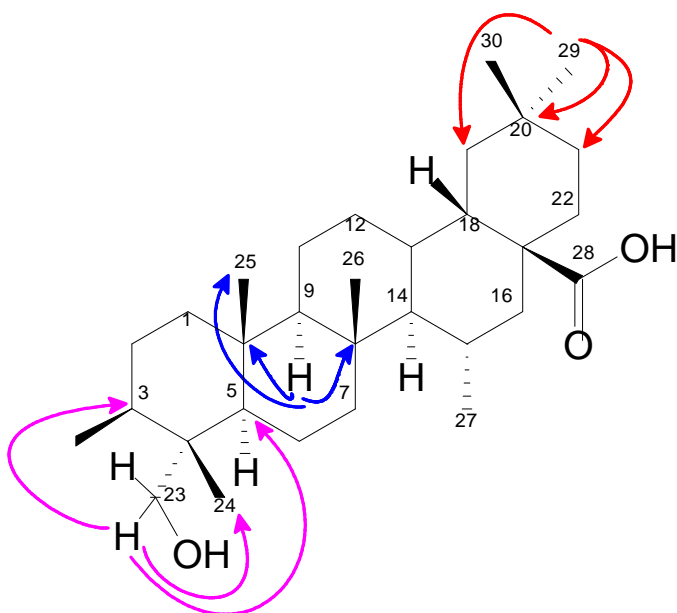


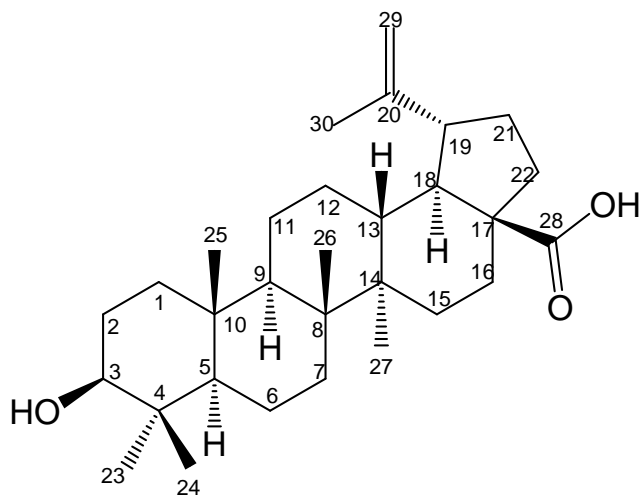
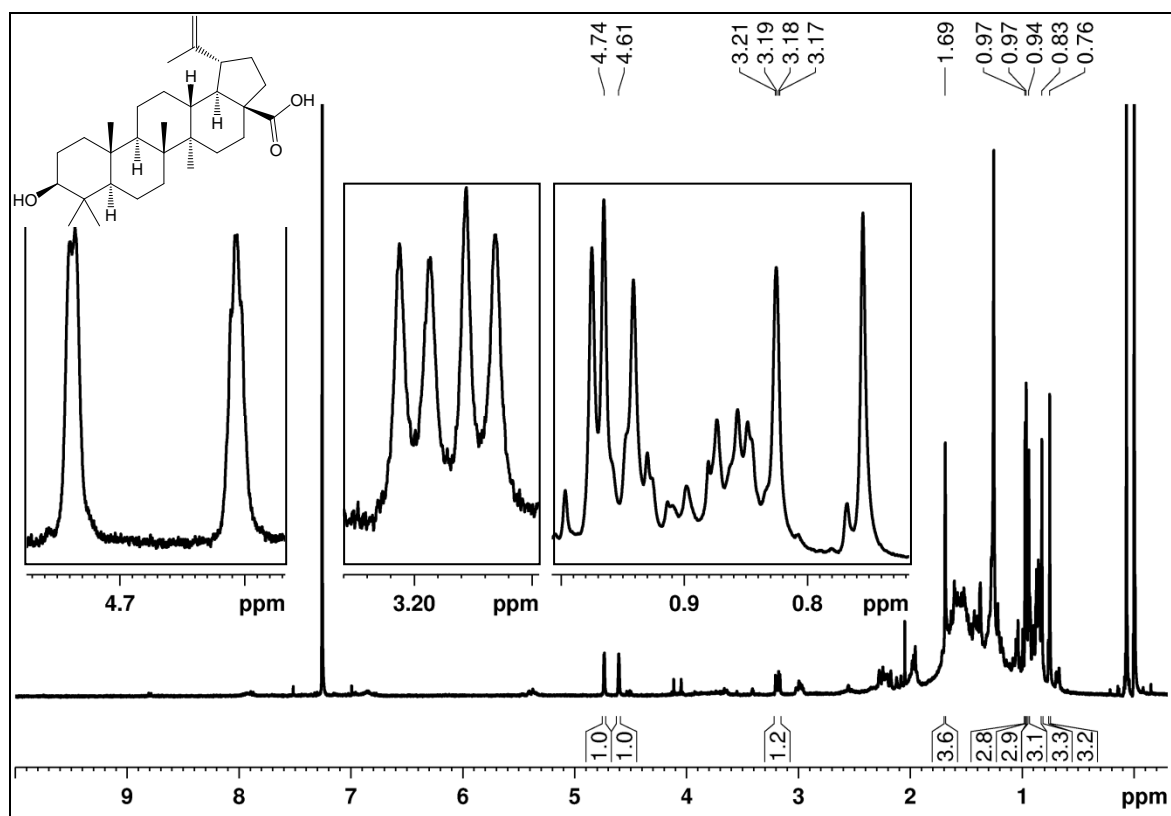
FIGURA 123. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S21**.

TABELA 31. DADOS DE RMN DE ^1H E $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DE **S21** E **S22** (CDCl_3 + MeOD, 50 MHz).

Posição	S21		S22	Posição	S21		S22
	δ_{H} ; mult. (J em Hz)	δ_{C}	δ_{C}		δ_{H} ; mult. (J em Hz)	δ_{C}	δ_{C}
1	N.D.	38,3	38,5	16	N.D.	23,6	23,2
2	1,09 e 1,20 m	27,8	26,2	17	-	46,6	47,8
3	3,60 m	76,2	76,2	18	2,86 m	41,4	53,0
4	-	41,8	41,8	19	N.D.	46,2	39,5
5	0,91 m	49,8	49,4	20	-	30,8	29,9
6	N.D.	18,7	18,7	21	N.D.	34,1	37,0
7	N.D.	32,1	33,2	22	N.D.	32,6	32,6
8	-	39,1	39,3	23	3,36 e 3,62 m	70,9	70,9
9	1,59 m	48,0	48,0	24	0,84 s	11,9	11,9
10	-	37,0	37,0	25	0,97 s	15,9	16,1
11	1,01 m	23,6	24,4	26	0,82 s	17,1	17,2
12	5,27 t (3,4)	122,4	125,6	27	1,15 s	26,0	23,4
13	-	144,1	138,4	28	-	181,1	180,9
14	-	42,3	42,0	29	0,91 s	33,2	17,2
15	N.D.	28,2	28,2	30	0,87 s	23,4	21,4

N. D. - Não determinado.

O espectro de RMN de ^1H da substância **S23** (Figura 124; página 180) foi muito semelhante ao da mistura anterior, diferindo principalmente por apresentar sinais de dois hidrogênios olefínicos em δ 4,61 (*dd*, $J=2,0$ e $1,6$ Hz, H-29a) e 4,74 (*d*, $J=1,6$ Hz, H-29b). Por este experimento foi possível observar também que esta molécula possui um hidrogênio em δ 3,19 (H-3) como um duplo duplete ($J=9,8$ e $4,8$ Hz), um hidrogênio em δ 2,99 (*ddd*, $J=10,7$, $10,7$ e $4,8$, H-19) e um grupo metila em δ 1,69 (*s*, H-30). Analisando os mapas de correlação ^1H - ^{13}C direta (Figura 125; página 181) e a longa distância (Figura 126; página 181), pode-se observar que os hidrogênios em δ 4,61 e 4,74 estão ligados ao carbono em δ 109,5 (C-29), e apresentam correlação com os carbonos em δ 19,2 (C-30) e 46,8 (C-19). Da mesma forma, o hidrogênio em δ 3,19 está ligado ao carbono em δ 78,9 (C-3) e faz correlação a longa distância com os carbonos em δ 15,3 (C-24) e 28,0 (C-23), o hidrogênio em δ 2,99 está ligado ao carbono em δ 46,8 (C-19) e faz correlação com os carbonos em δ 19,2 (C-30) e 31,2 (C-21). Por sua vez, o grupo metila em δ 1,69 (H-30) apresentou correlações com os carbonos em δ 46,8 (C-19), 109,5 (C-29) e 150,4 (C-20). Pode-se observar ainda que alguns hidrogênios fazem correlação com um carbono em δ 179,2 (C-28), característico de carboxila de ácido (Tabela 32; página 182, Figura 127; página 183). Com base nesses dados e comparação com a literatura foi possível determinar o esqueleto desta substância como sendo um lupeno (OLEA; ROQUE, 1990), e identificar **S23** como o ácido betulínico (KENNEDY, 2012). Esta substância, que já foi isolada de diversas espécies de *Betula* (Betulaceae), se mostrou muito ativa contra células de melanoma sem ser citotóxica, apresentou atividade antibacteriana, antiviral, anti-HIV e antifúngica (KRASUTSKY, 2006).

**S23**FIGURA 124. Espectro de RMN de ^1H de **S23** com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz).

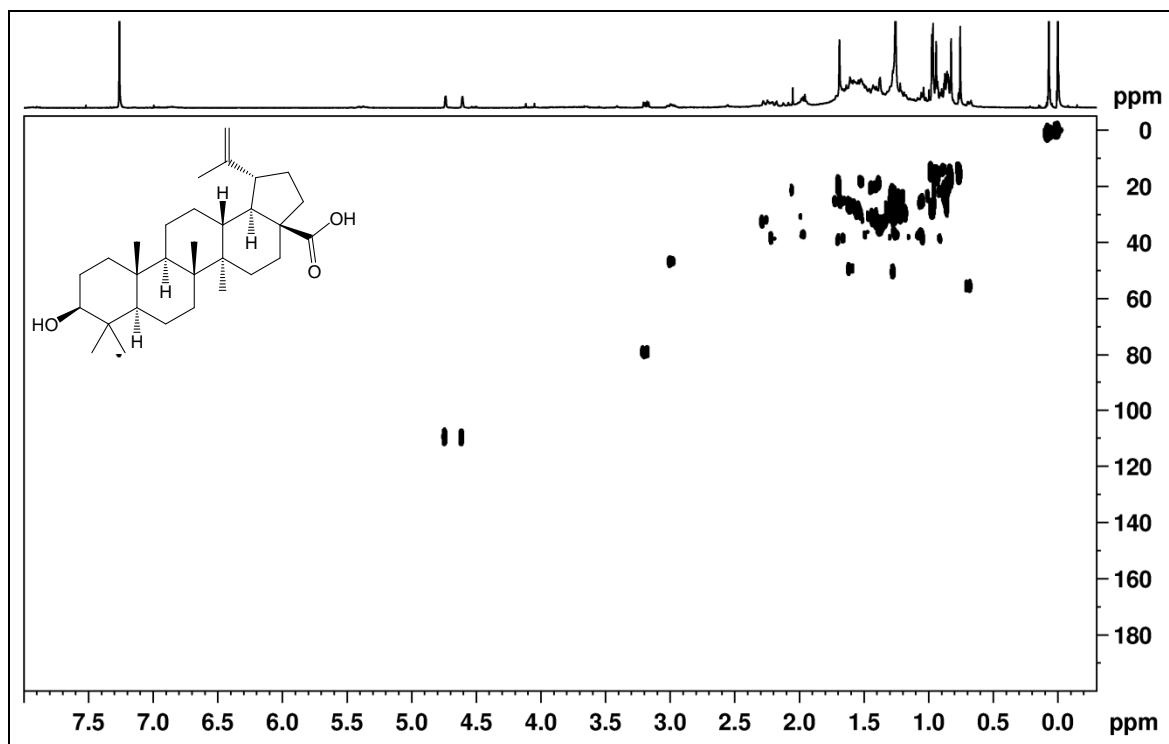


FIGURA 125. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S23** (CDCl_3 , 400 MHz).

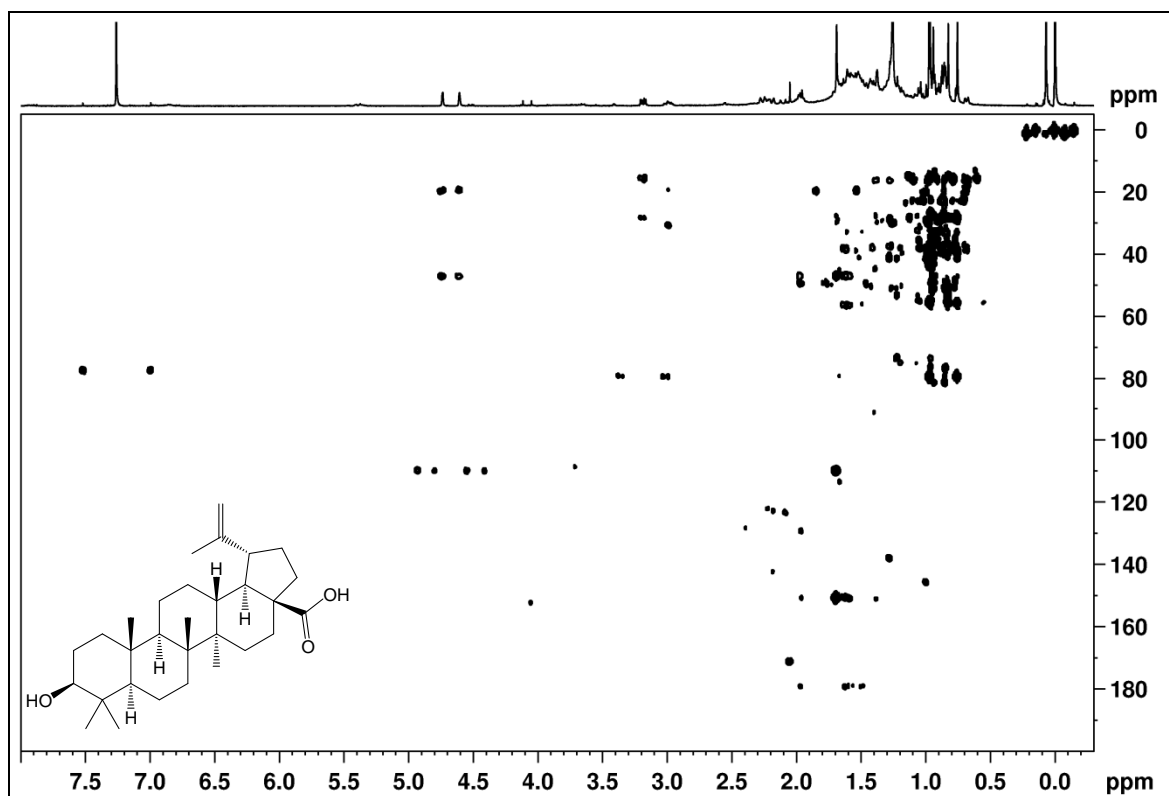


FIGURA 126. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S23** (CDCl_3 , 400 MHz).

TABELA 32. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DE **S23** (CDCl_3 , 400 MHz).

Posição	δ_{H} ; mult. (<i>J</i> em Hz)	δ_{C}	$^{\text{LD}}J_{\text{H,C}}$
1	1,04 e 1,66 <i>m</i>	38,6	10
2	0,85 e 1,60 <i>m</i>	27,0	4, 10
3	3,19 <i>dd</i> (9,8: 4,8)	78,9	23, 24
4	-	38,9	-
5	0,69 <i>m</i>	55,3	1, 10
6	1,38 e 1,51 <i>m</i>	18,3	8
7	1,37 <i>m</i>	34,2	26
8	-	40,7	-
9	1,27 <i>m</i>	50,4	10,25
10	-	37,6	-
11	1,41 e 1,44 <i>m</i>	21,1	9, 10
12	1,05 e 1,69 <i>m</i>	25,5	14
13	1,04 <i>m</i>	38,3	15
14	-	42,3	-
15	1,18 e 1,29 <i>m</i>	29,7	13
16	1,22 e 1,55 <i>m</i>	29,0	14, 28
17	-	48,5	-
18	1,61 <i>m</i>	49,2	13, 14, 19, 20
19	2,99 <i>ddd</i> (10,7:10,7:4,8)	46,8	21, 30
20	-	150,4	-
21	1,40 e 1,43 <i>m</i>	31,2	18, 20
22	1,05 e 1,26 <i>m</i>	35,8	18, 28
23	0,96 <i>s</i>	28,0	3, 4, 5, 24
24	0,76 <i>s</i>	15,3	3, 4, 5, 23
25	0,83 <i>s</i>	16,1	4, 5, 9
26	0,94 <i>s</i>	15,8	7, 8, 9, 14
27	0,97 <i>s</i>	14,5	8, 13, 14, 15
28	-	179,2	-
29a	4,61 <i>dd</i> (2,0:1,6)	109,5	19, 30
29b	4,74 <i>d</i> (1,6)		19, 30
30	1,69 <i>s</i>	19,2	19, 20, 29

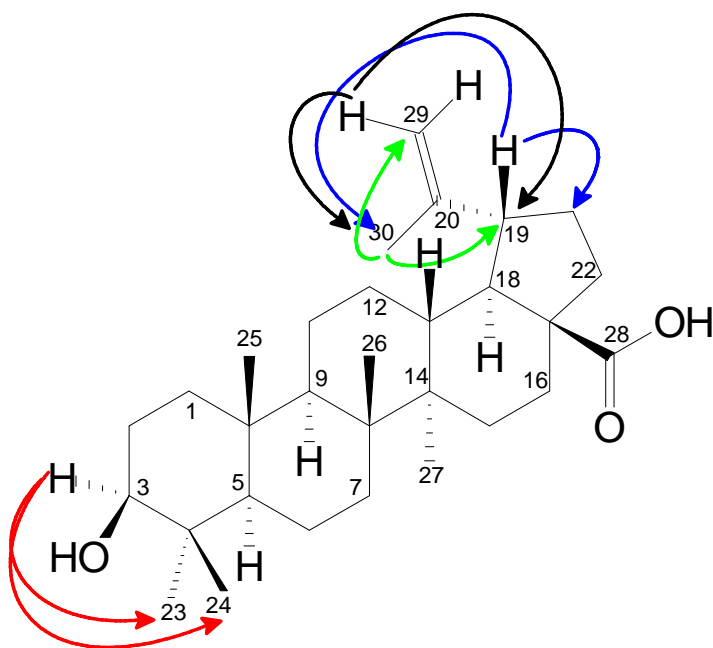


FIGURA 127. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S23**.

4.6. ETILCICLOEXANÓIDES - IDENTIFICAÇÃO DE **S24**, **S25**, **S26** E **S27**

As substâncias **S24**, **S25**, **S26** e **S27** apresentaram dados espectrais distintos das demais, estando ausentes sinais de anéis aromáticos ou grupos metila. As quatro são conhecidas e apresentam um esqueleto básico com apenas oito átomos de carbono, que é comumente designado como etilcicloexanóide.

A substância **S24** apresentou no seu espectro de RMN de ^1H (Figura 128; página 185) sinais de dois grupos metileno em δ 2,23 (H-7ax), 2,34 (H-7eq), 2,61 (H-6eq) e 2,78 (H-6ax), três hidrogênios carbinólicos em δ 3,96 (H-8ax), 4,08 (H-8eq) e 4,25 (H-5) e dois hidrogênios olefínicos um em δ 6,02 (*d*, J = 10,2 Hz, H-2) e o outro em δ 6,77 (*dd*, J = 10,2 e 1,4 Hz, H-3). Os espectros de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e DEPT-135 (Figura 129; página 186) apresentaram oito sinais, sendo um referente à uma carbonila de cetona α,β -insaturada em δ 197,8 (C-1), dois de carbonos olefínicos em δ 127,8 (C-2) e 149,0 (C-3), dois de carbonos metilênicos em δ 39,0 (C-7) e 39,6 (C-6) e três carbonos oxigenados, sendo um metilênico em δ 66,0 (C-8), um metínico em δ 80,8 (C-5) e um quaternário em δ 74,4 (C-4) (Tabela 33; página 196). Pelo

mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C (Figura 130; página 186) pode-se observar que o hidrogênio em δ 2,61 está ligado ao carbono em δ 39,6 (C-6), o hidrogênio em δ 4,25 está ligado ao carbono em δ 80,8 (C-5) e o hidrogênio em δ 2,34 está ligado ao carbono em δ 39,0 (C-7). No mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (Figura 131; página 187) pode-se visualizar que o hidrogênio em δ 6,02 (H-2) faz correlação com os carbonos em δ 39,6 (C-6), 74,4 (C-4), 197,8 (C-1), e o hidrogênio em δ 4,25 (H-4) faz correlação com os carbonos em δ 39,0 (C-7), 66,0 (C-8), 74,4 (C-4), 149,0 (C-3), 197,8 (C-1) (Figura 134; página 188). A partir desses dados, **S24** foi prontamente identificada como halleridona, uma cicloexenona previamente isolada de *Halleria lucida* (MESSANA *et al.*, 1984) e também pelo nosso grupo a partir dos tubérculos de *S. aggregata* (VERDAN *et al.*, 2015) e *S. warmingii* (VERDAN *et al.*, 2014).

A rotação específica desta molécula resultou em zero, portanto é um racemato, que deve ter sido formado pela ciclização não estereoespecífica. A configuração *cis*, com o anel tetraidrofurano para o mesmo lado nos dois estereocentros, foi deduzida pelas constantes de acoplamento. Nesta situação, ocorre um acoplamento em "W" do hidrogênio em δ 4,25 (H-5) com o hidrogênio em δ 6,77 (H-3), resultando no desdobramento do sinal de H-3 em um duplo duplete, tendo uma constante de acoplamento a longa distância de 1,4 Hz. Experimentos de NOE também confirmaram esta configuração, pois a irradiação seletiva do hidrogênio em δ 4,25 (H-5) causou aumento apenas do sinal dos hidrogênios em δ 2,61 e 2,78 (H-6) (Figura 132; página 187) e a irradiação seletiva do hidrogênio em δ 6,77 (H-3) causou apenas aumento do sinal do hidrogênio em δ 6,02 (H-2) (Figura 133; página 188). O espectro de massas da halleridona (Figura 135; página 188) apresentou o pico do íon molecular com m/z 154 ($\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_3$), o que é esperado para essa estrutura. A fragmentação de massas dessa molécula resultou em vários picos como com m/z 136 ($[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$), 112 ($[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^+$), 110 ($[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}]^+$), 82 ($[\text{M}-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}]^+$), 68 ($[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}]^+$), 54 ($[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$ ou $\text{M}-\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}]^+$).

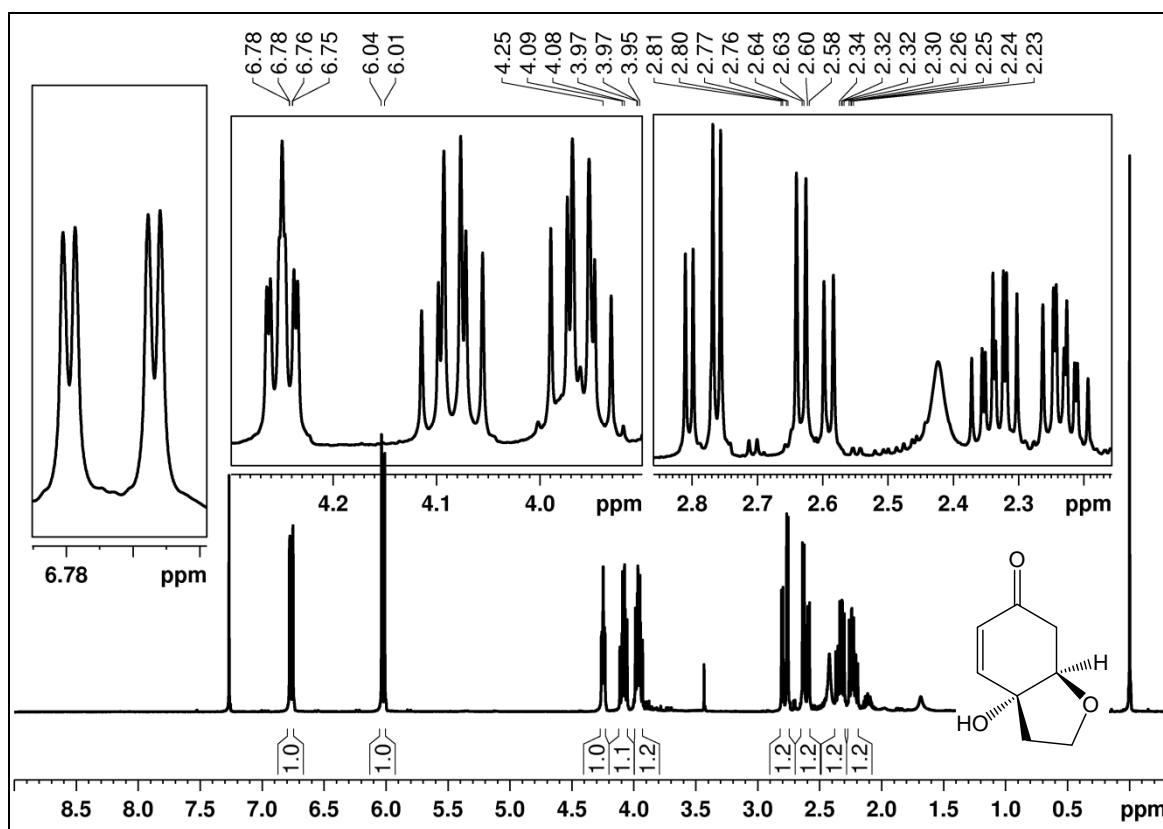
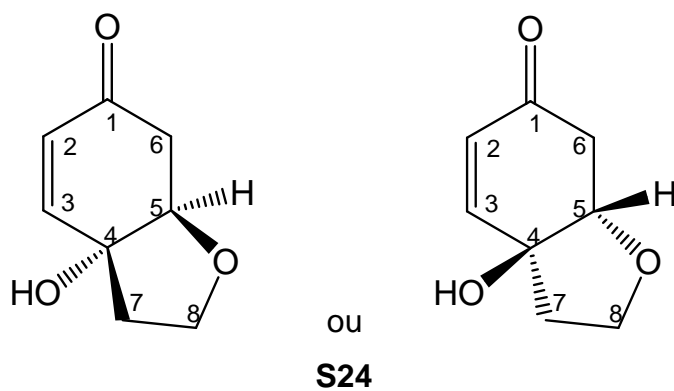


FIGURA 128. Espectro de RMN de ^1H de **S24** com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz).

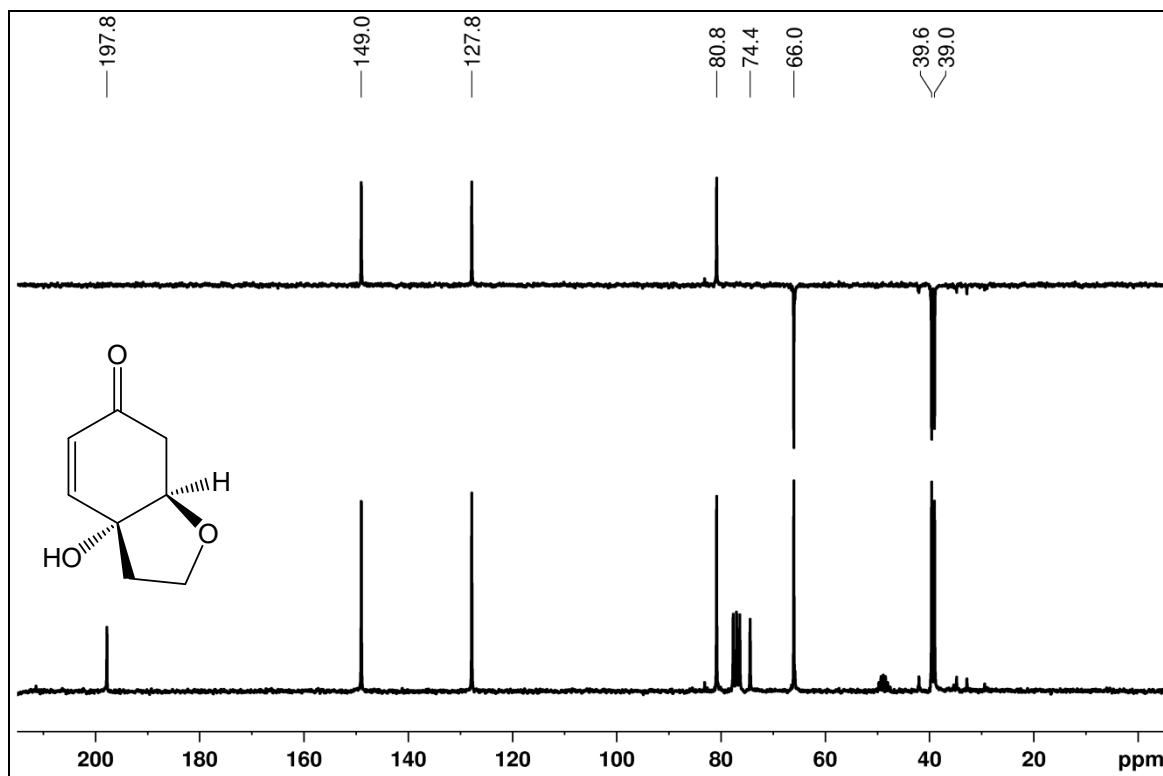


FIGURA 129. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e DEPT-135 sobrepostos de **S24** (CDCl_3 , 50 MHz).

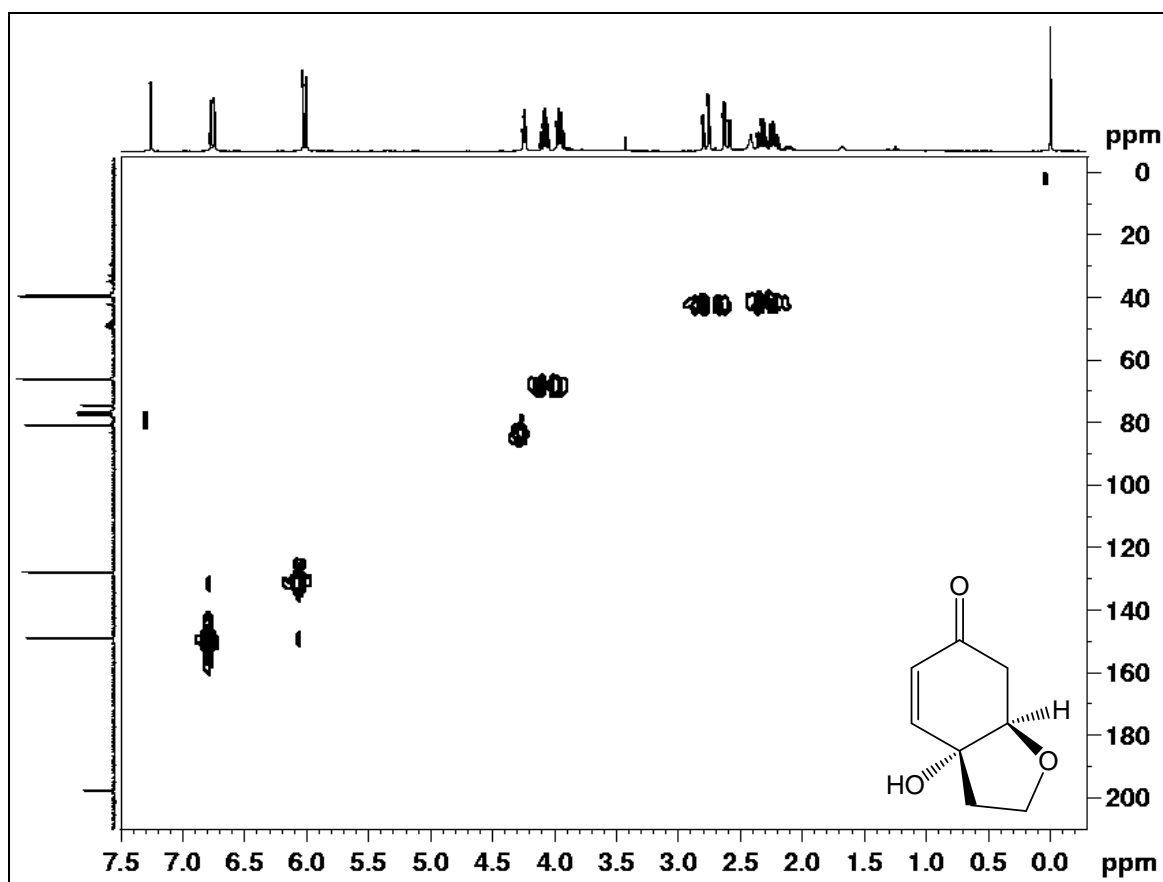


FIGURA 130. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S24** (CDCl_3 , 400 MHz).

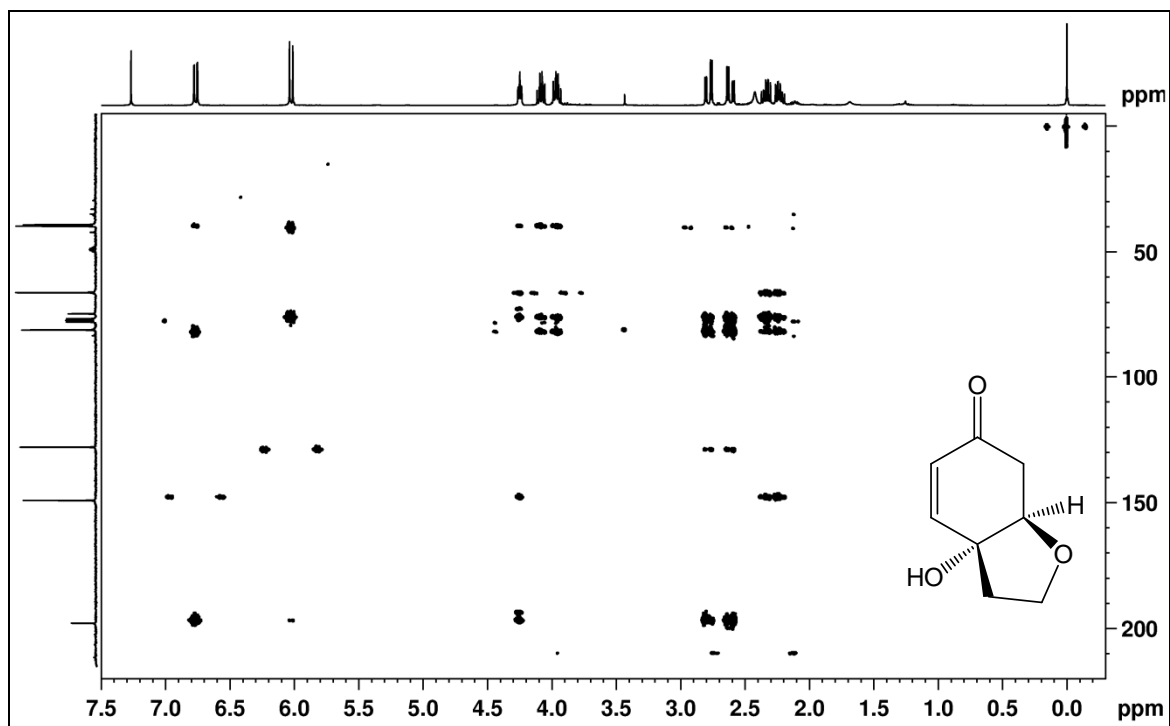


FIGURA 131. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S24** (CDCl_3 , 400 MHz).

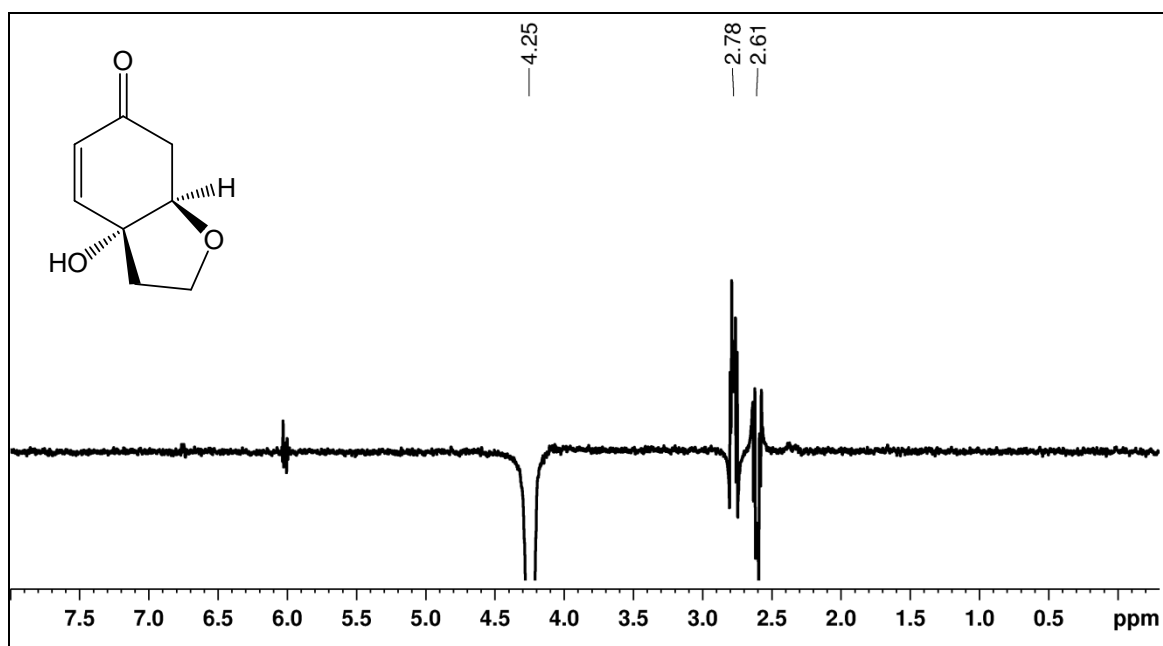


FIGURA 132. NOE de **S24** irradiando o hidrogênio em δ 4,25 (H-5) (CDCl_3 , 400 MHz).

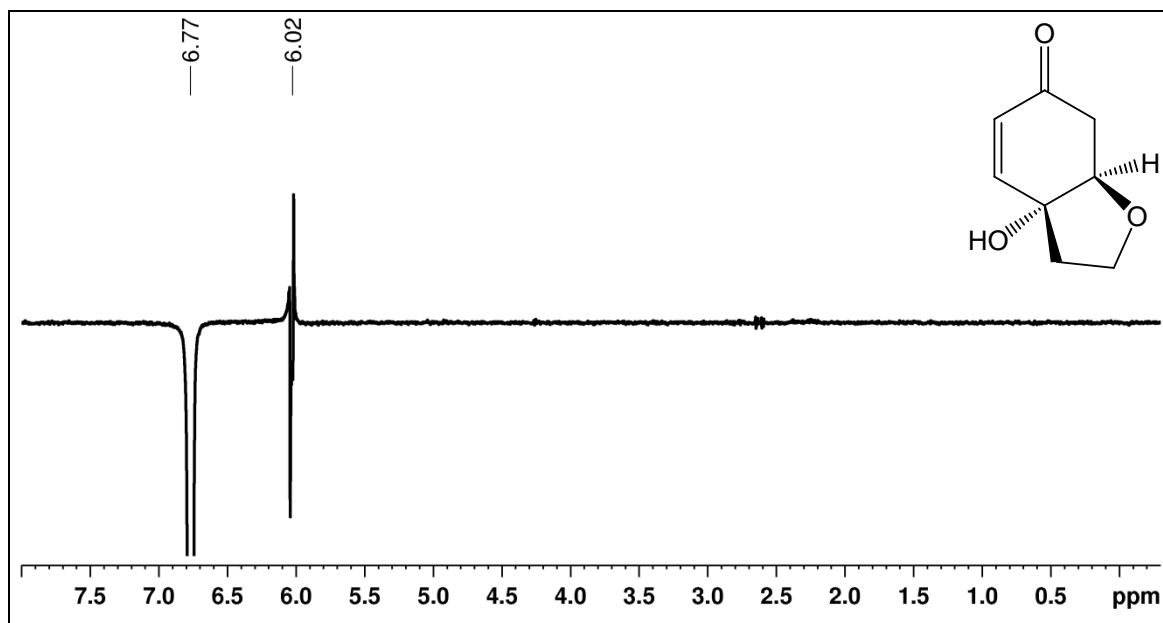


FIGURA 133. NOE de **S24** irradiando o hidrogênio em δ 6,77 (H-3) (CDCl_3 , 400 MHz).

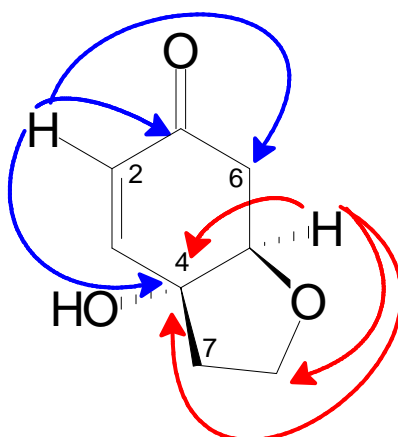


FIGURA 134. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S24**.

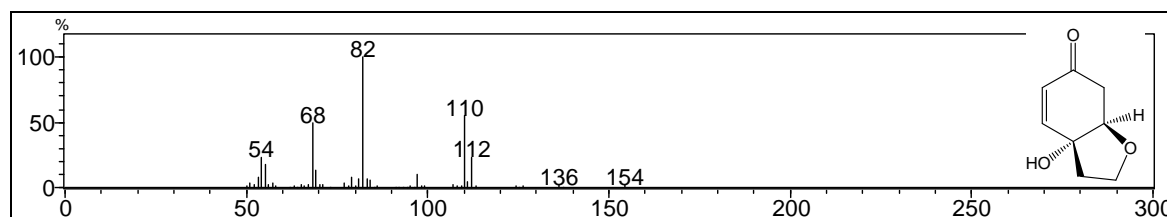
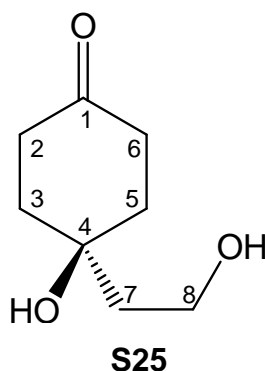


FIGURA 135. Espectro de massas de baixa resolução de **S24**.

A substância **S25** foi isolada como um óleo amarelo. O seu espectro de RMN de ^1H (Figura 136; página 190) foi muito semelhante ao da substância anterior, porém não apresentou os sinais de hidrogênios olefínicos. Ao invés disto, foram observados sinais de hidrogênios metilênicos entre δ 1,73 e 2,77 e também um sinal

referente a dois hidrogênios carbinólicos em δ 4,01 (t , $J=5,6$ Hz, H-8). O seu espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (Figura 137; página 190) apresentou seis sinais, um referente a uma carbonila de cetona em δ 212,2 (C-1), dois carbonos oxigenados em δ 70,5 (C-4) e 59,9 (C-8), e mais três sinais de carbonos metilênicos em δ 41,7 (C-7), 37,2 (C-3 e C-5) e 36,8 (C-2 e C-6) (Tabela 33; página 196). Esses dados sugeriram uma molécula simétrica, com dois carbonos equivalentes. Pelos experimentos de correlação direta ^1H - ^{13}C (Figura 138; página 191) e a longa distância (Figura 139; página 191) pode-se observar que os hidrogênios em δ 4,01 (H-8) estão ligados ao carbono em δ 59,9 e fazem correlação com os carbonos em δ 41,7 (C-7) e 70,5 (C-4) (Figura 140; página 192). Estas características espectrais foram reconhecidas como da cleroidicina-B, uma etilcicloexanona conhecida (TIAN *et al.*, 1997) e identificada pelo nosso grupo em *Sinningia speciosa* (VERDAN *et al.*, 2009). O espectro de massas dessa molécula (Figura 141; página 192) apresenta o pico do íon molecular com m/z 158, equivalente à fórmula molecular $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}_3$, que é aquela de **S25**. A fragmentação dessa substância gerou fragmentos com m/z 140 ($[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$), 113 ($[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_5\text{O}]^+$), 101 ($[\text{M}-\text{C}_3\text{H}_5\text{O}]^+$), 83 ($[\text{M}-\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_2]^+$), 71 ($[\text{M}-\text{C}_4\text{H}_7\text{O}_2$ ou $\text{M}-\text{C}_5\text{H}_{11}\text{O}]^+$), 55 ($[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_{11}\text{O}_2]^+$).



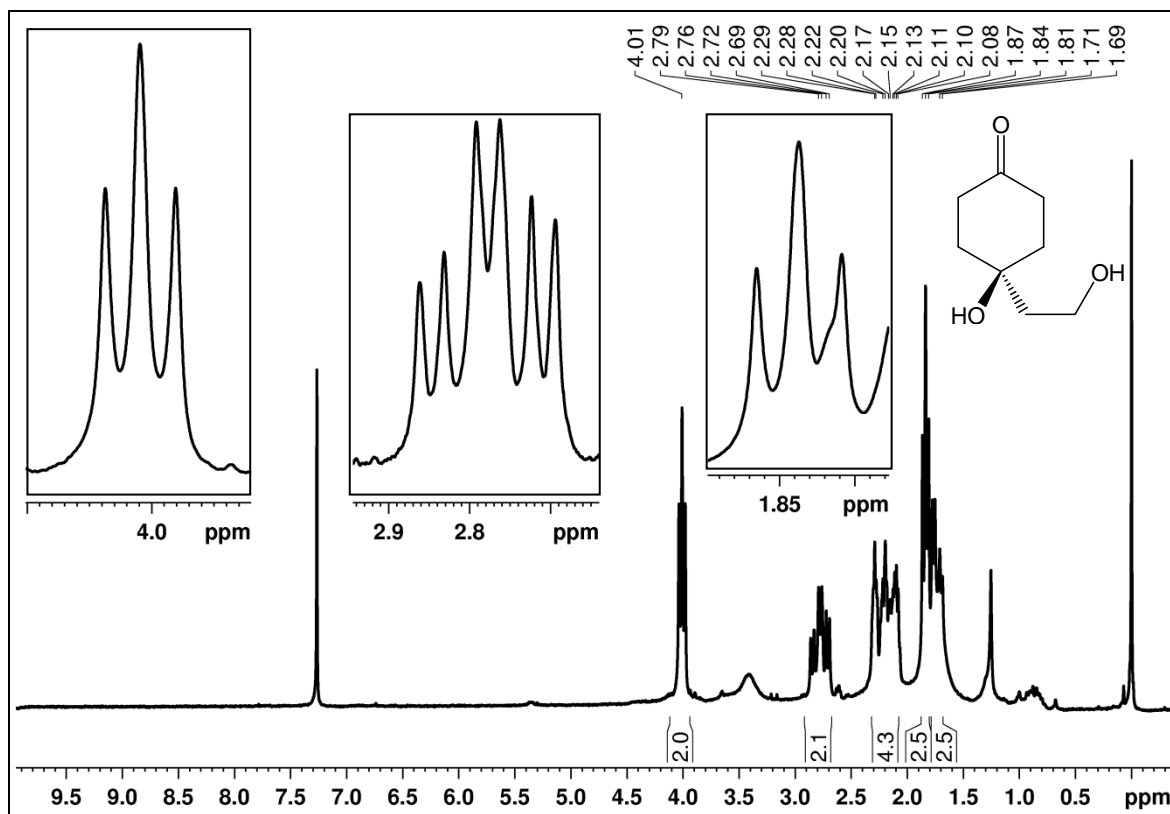


FIGURA 136. Espectro de RMN de ¹H de **S25** com ampliações (CDCl₃, 400 MHz).

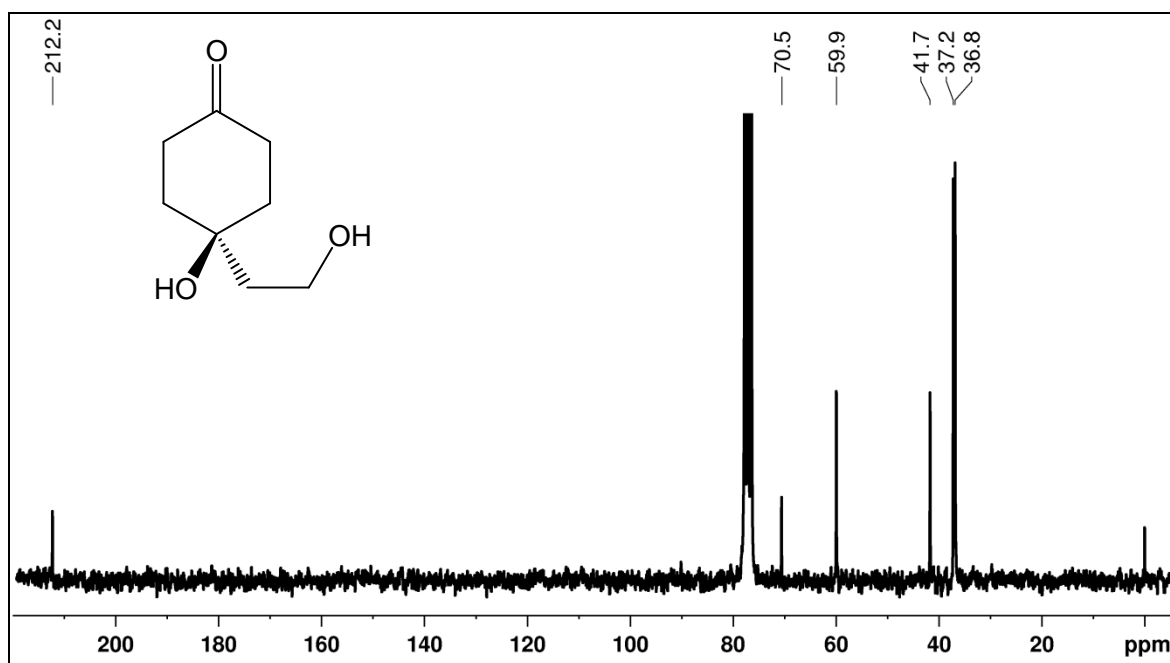


FIGURA 137. Espectro de RMN de ¹³C{¹H} de **S25** (CDCl₃, 50 MHz).

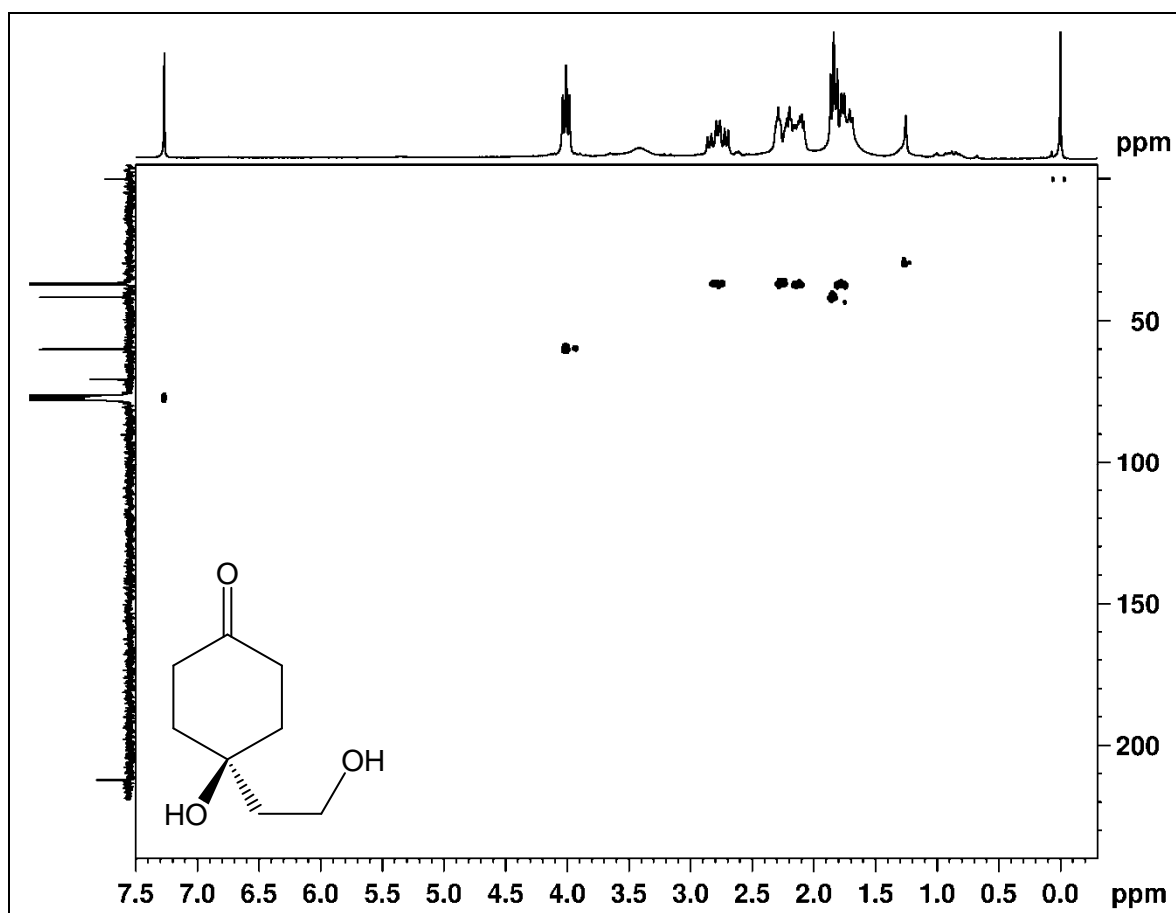


FIGURA 138. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S25** (CDCl_3 , 400 MHz).

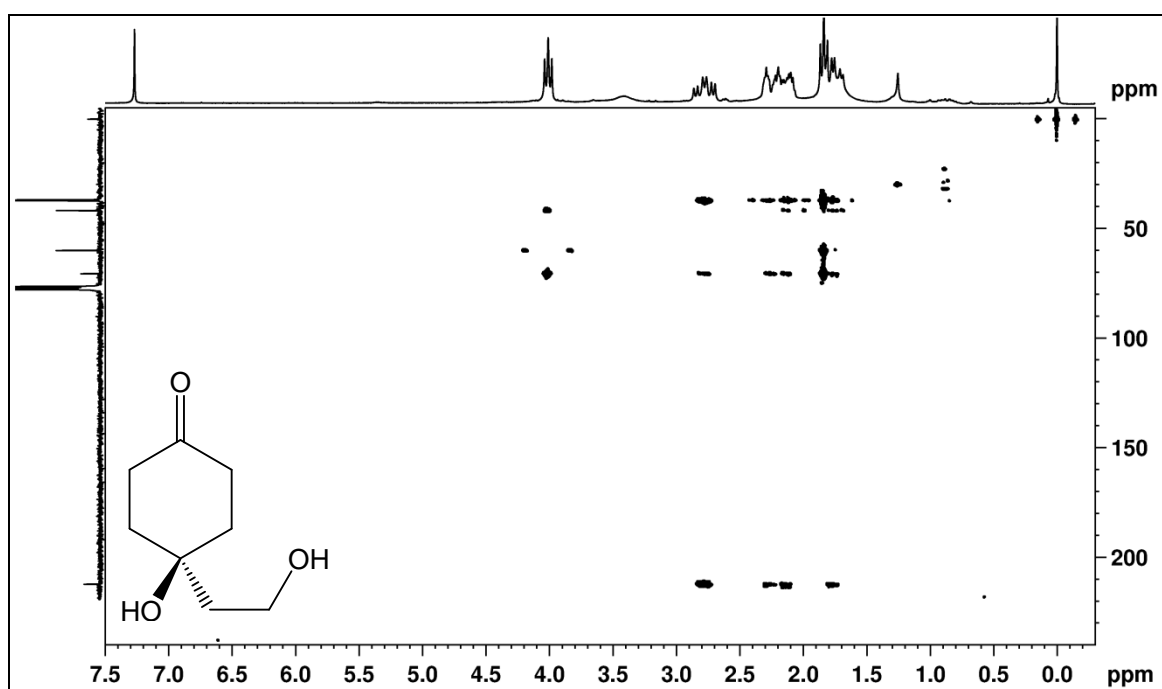


FIGURA 139. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S25** (CDCl_3 , 400 MHz).

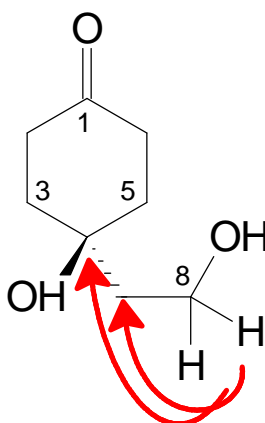


FIGURA 140. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S25**.

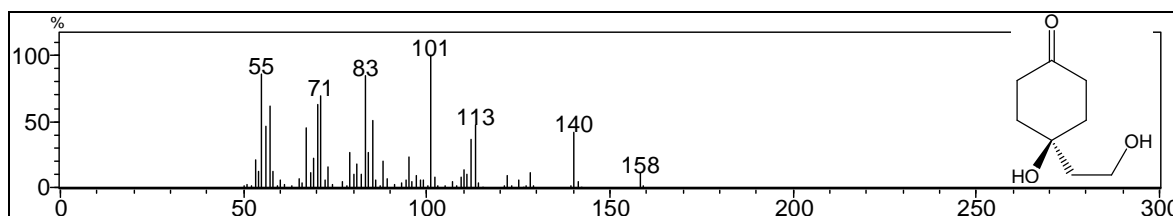


FIGURA 141. Espectro de massas de baixa resolução de **S25**.

A substância **S26** apresentou no seu espectro de RMN de ^1H (Figura 142; página 193) sinais de oito hidrogênios metilênicos entre δ 2,07 e 2,72 e três oxigenados entre δ 3,89 e 3,97. O seu espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ combinado com o DEPT-135 (Figura 143; página 194) apresentou sinais de um grupo carbonila de cetona em δ 209,5 (C-1), três de carbonos oxigenados, sendo um quaternário em δ 77,2 (C-4), um metínico em δ 83,5 (C-5) e um metilênico em δ 66,0 (C-8), além de quatro carbonos metilênicos entre δ 33,4 e 42,4. Analisando-se os mapas de correlação ^1H - ^{13}C direta (Figura 144; página 194) e a longa distância (Figura 145; página 195) pode-se estabelecer a estrutura de **S26**, como a substância conhecida como cleroindicina-C (TIAN *et al.*, 1997), que está sendo relatada pela primeira vez no gênero *Sinningia* (Tabela 33; página 196; Figura 146; página 195). O espectro de massas dessa substância confirma sua estrutura (Figura 147; página 195), pois apresentou o pico do íon molecular com m/z 156 ($\text{C}_8\text{H}_{12}\text{O}_3$) e os fragmentos com m/z 128 ($[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_4 \text{ ou } \text{CO}]^+$), 112 ($[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}]^+$), 97 ($[\text{M}-\text{C}_3\text{H}_7\text{O}]^+$), 83 ($[\text{M}-\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2 \text{ ou } \text{C}_4\text{H}_9\text{O}]^+$), 71 ($[\text{M}-\text{C}_4\text{H}_5\text{O}_2 \text{ ou } \text{C}_5\text{H}_9\text{O}]^+$), 55 ($[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_9\text{O}_2 \text{ ou } \text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}]^+$).

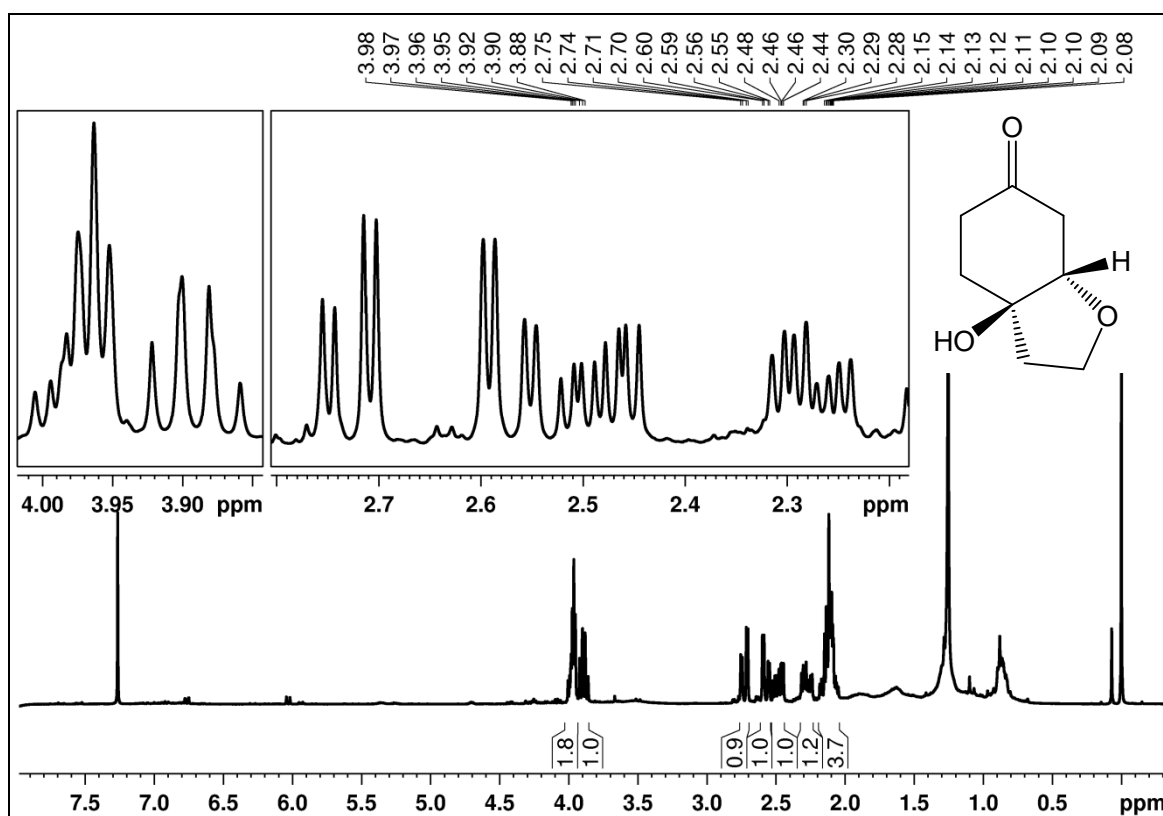
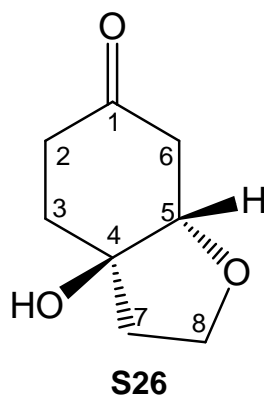


FIGURA 142. Espectro de RMN de ^1H de **S26** com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz).

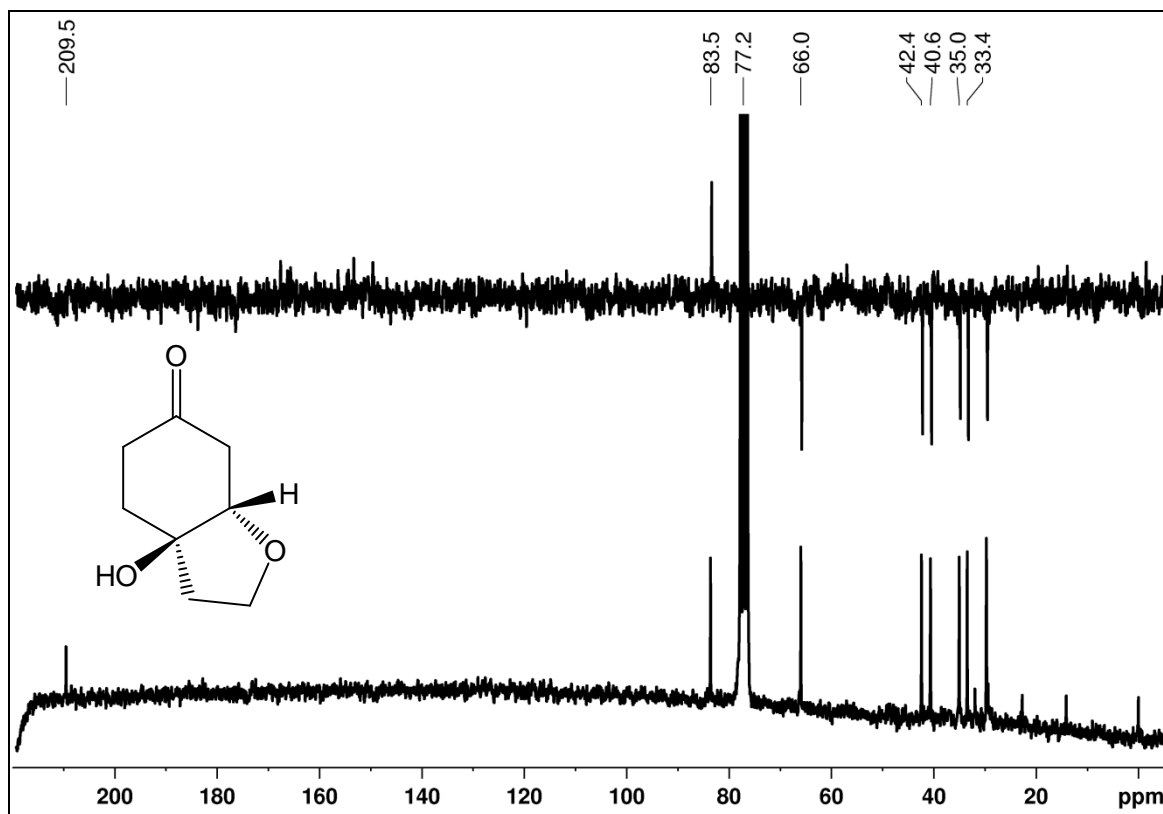


FIGURA 143. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e DEPT-135 sobrepostos de **S26** (CDCl_3 , 50 MHz).

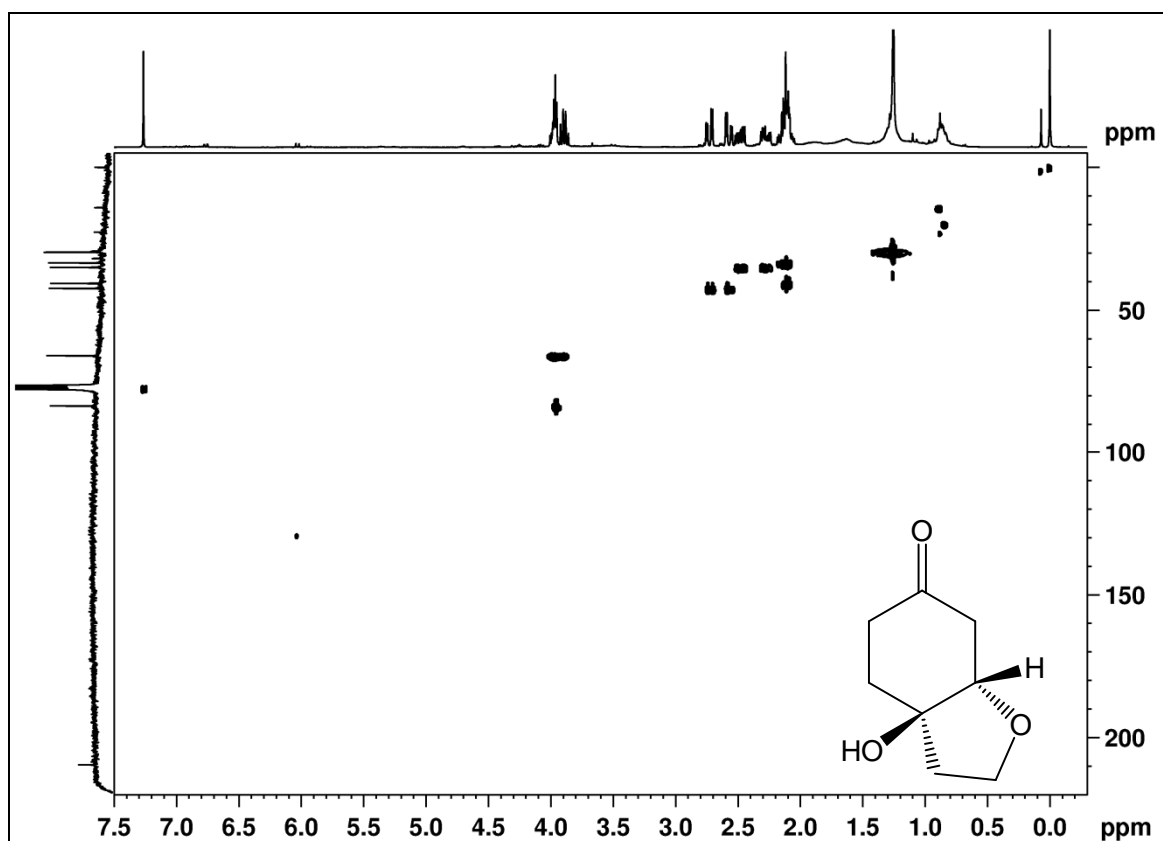


FIGURA 144. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S26** (CDCl_3 , 400 MHz).

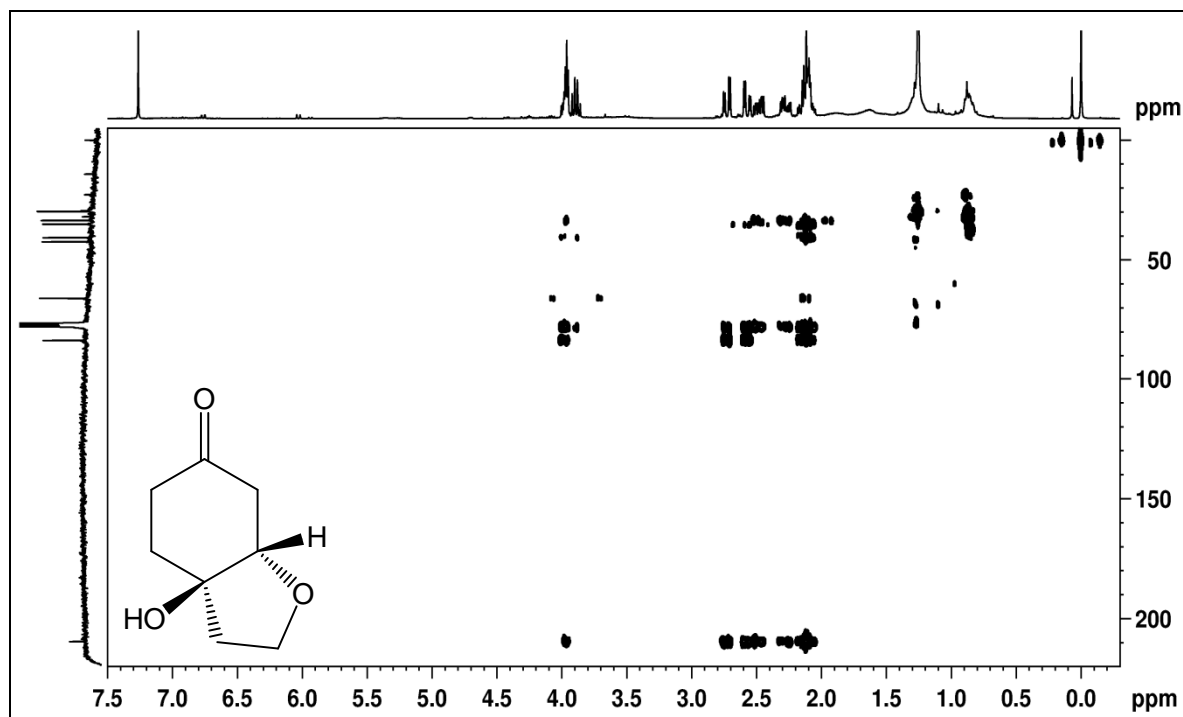


FIGURA 145. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S26** (CDCl_3 , 400 MHz).

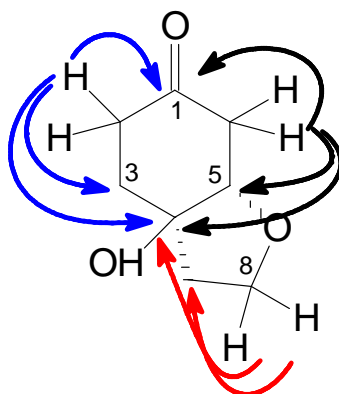


FIGURA 146. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S26**.

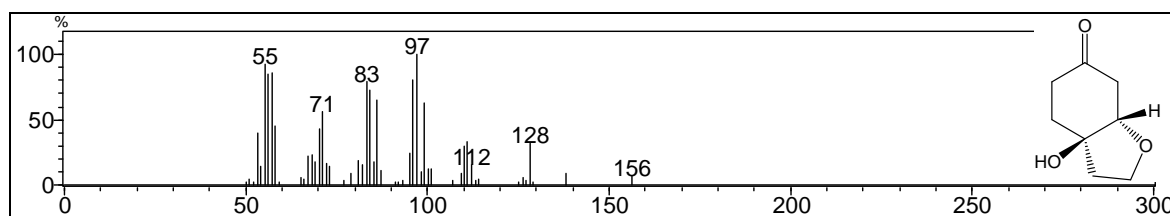


FIGURA 147. Espectro de massas de baixa resolução de **S26**.

TABELA 33. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DAS SUBSTÂNCIAS **S24**, **S25** E **S26** (CDCl_3 , 400 MHz).

Pos.	S24			S25			S26		
	δ_{H} ; mult. (<i>J</i> em Hz)	δ_{C}	$^{\text{LD}} J_{\text{H,C}}$	δ_{H} ; mult. (<i>J</i> em Hz)	δ_{C}	$^{\text{LD}} J_{\text{H,C}}$	δ_{H} ; mult. (<i>J</i> em Hz)	δ_{C}	$^{\text{LD}} J_{\text{H,C}}$
1	-	197,8	-	-	212,2	-	-	209,5	-
2ax	6,02 <i>d</i> (10,2)	127,8	1,4,6	2,77 <i>ddd</i> (15,0:13,7:6,0)	36,8	1,4,5	2,48 <i>ddd</i> (17,5:8,3:5,2)	35,0	1,3,4
2eq				2,25 <i>m</i>		1,4,5	2,27 <i>ddd</i> (17,5:8,6:4,3)		1,3,4
3ax	6,77 <i>dd</i> (10,2:1,4)	149,0	1,4,7	1,73 <i>m</i>	37,2	1,4,6	2,16 <i>m</i>	33,4	1,2,4,5,7
3eq				2,11 <i>m</i>		1,4,6			
4	-	74,4	-	-	70,5	-	-	77,2	-
5ax	4,25 <i>ddd</i> (5,8:4,7:1,4)	80,8	1,4,5,7,8	1,73 <i>m</i>	37,2	1,4,6	3,96 <i>t</i> (4,4)	83,5	1,3,4,7
5eq				2,11 <i>m</i>		1,4,6			
6ax	2,78 <i>dd</i> (16,8:4,7)	39,6	1,3,4,6	2,77 <i>ddd</i> (15,0:13,7:6,0)	36,8	1,4,5	2,72 <i>dd</i> (16,3:4,4)	42,4	1,4,5
6eq	2,61 <i>dd</i> (16,8:5,8)		1,3,4,6	2,25 <i>m</i>		1,4,5	2,57 <i>dd</i> (16,3:4,4)		1,4,5
7ax	2,23 <i>ddd</i> (13,1:8,1:6,6)	39,0	3,4,5,8	1,84 <i>t</i> (5,6)	41,7	3,4,5,8	2,07 <i>m</i>	40,6	4,5,
7eq	2,34 <i>ddd</i> (13,1:8,3:6,4)		3,4,5,8				3,97 <i>m</i>	66,0	4,7
8ax	3,96 <i>ddd</i> (8,6:8,1:6,4)	66,0	3,4,7	4,01 <i>t</i> (5,6)	59,9	4,7	3,89 <i>m</i>		
8eq	4,08 <i>ddd</i> (8,6:8,3:6,6)		3,4,7						

A substância **S27** apresentou seu espectro de RMN de ^1H (Figura 148; página 198) um pouco diferente das substâncias anteriores, pois mostrou dois sinais de hidrogênios olefínicos, um em δ 7,02 (*dt*, $J=10,1$ e $1,9$ Hz, H-3 e H5) e outro em δ 6,11 (*dm*, $J=10,1$ Hz, H-2 e H-6), além de sinais de hidrogênios oxigenados (δ 4,22 a 3,14), sendo um deles um duplete ($J=7,7$ Hz) em δ 4,22 (H-1'), e um tripleto ($J=6,5$ Hz) em δ 2,05 (H-7) referente a um grupo CH_2 vizinho a outro CH_2 . A combinação dos espectros de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e DEPT-135 (Figura 149; página 199) indicou treze sinais, sendo três metilênicos em δ 41,1 (C-7), 62,8 (C-6) e 65,8 (C-8), oito metínicos em δ 71,7 (C-4'), 75,2 (C-2'), 78,1 (C-5'), 78,2 (C-3'), 104,4 (C-1'), 128,1 (C-2 e C-6), 154,6 (C-3) e 154,7 (C-5) e dois carbonos quaternários, correspondendo a um carbono oxigenado em δ 69,4 (C-4) e um grupo carbonila α,β -insaturado em δ 188,1 (C-1). Estes dados indicam um etilcicloexeno glicosilado. Neste caso o cicloexeno é praticamente simétrico, resultando na equivalência quase total dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio e carbono neste anel. Com as informações obtidas dos experimentos de correlação ^1H - ^{13}C direta (Figura 150; página 199) e a longa distância (Figura 151; página 200) pode-se visualizar, entre outros, que o hidrogênio em δ 7,02 (H-3 e H-5) está ligado ao carbono em δ 154,6 e faz correlação com os carbonos em δ 41,1 (C-7), 69,4 (C-4), 128,1 (C-2 e C-6), 154,7 (C-5), 188,1 (C-1), o hidrogênio em δ 4,22 (H-1') está ligado ao carbono em δ 104,4 e faz correlação com os carbonos em δ 65,8 (C-8), 75,2 (C-2') e 78,1 (C-5'), e o hidrogênio em δ 3,99 (H-8b) está ligado ao carbono em δ 65,8 e faz correlação com os carbonos em δ 41,1 (C-7), 69,4 (C-4) e 104,4 (C-1') (Tabela 34; página 200; Figura 152; página 201). Com isso e uma busca na literatura, identificou-se **S27** como sendo o cornosídeo (SASAKI *et al.*, 1978), isolado de diversas espécies da família Gesneriaceae (VERDAN; STEFANELLO, 2012).

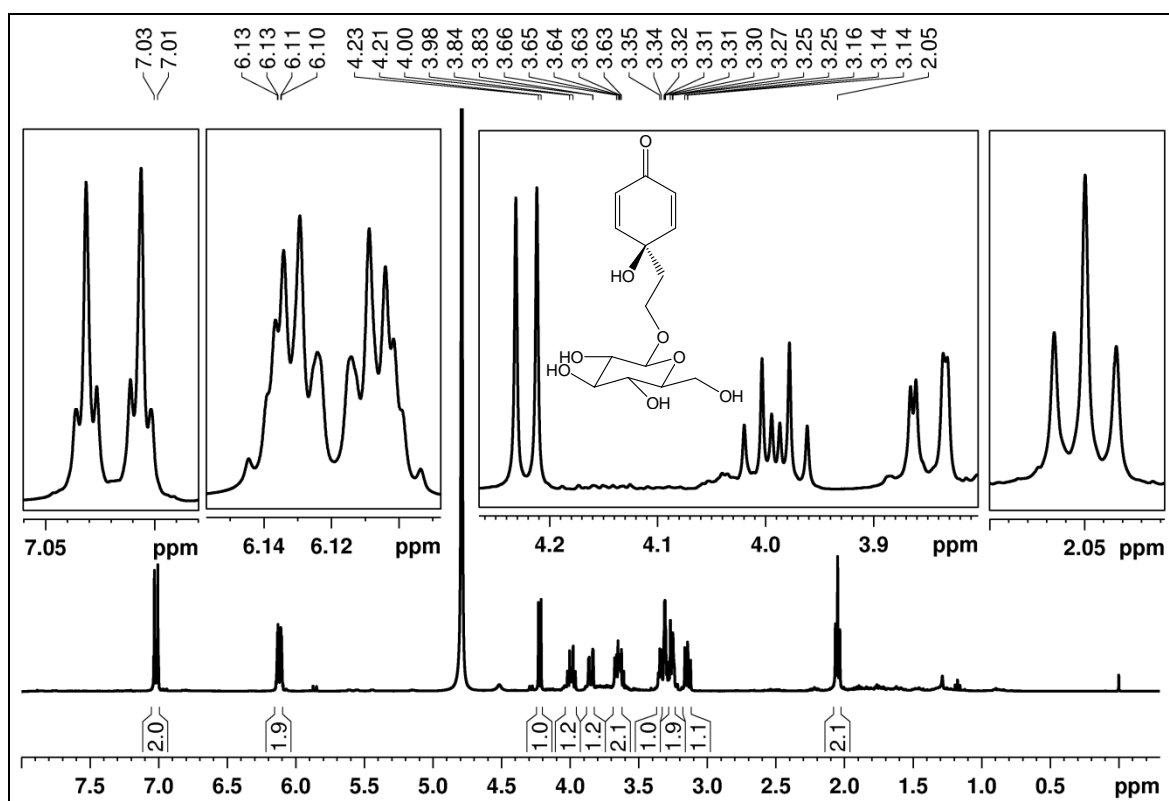
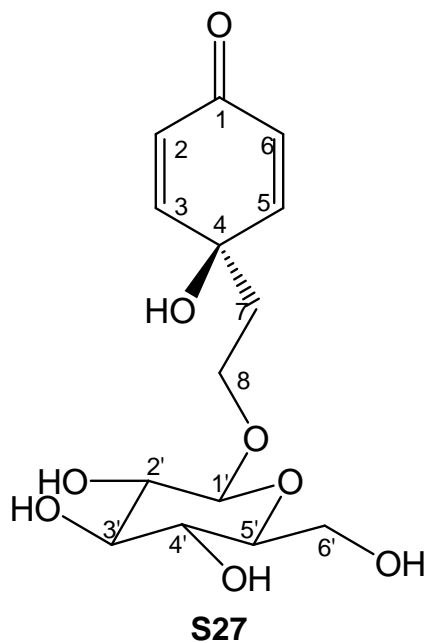


FIGURA 148. Espectro de RMN de ^1H de **S27** com ampliações (MeOD, 400 MHz).

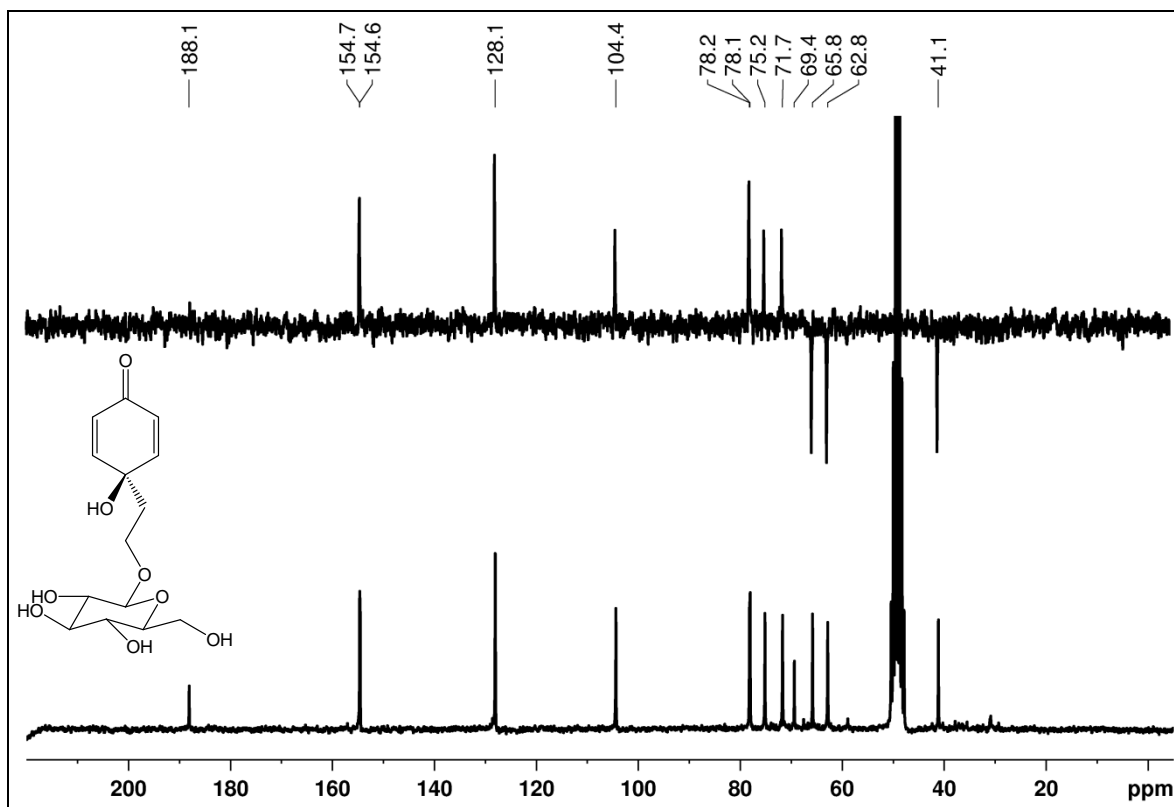


FIGURA 149. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e DEPT-135 sobrepostos de **S27** (MeOD, 50 MHz).

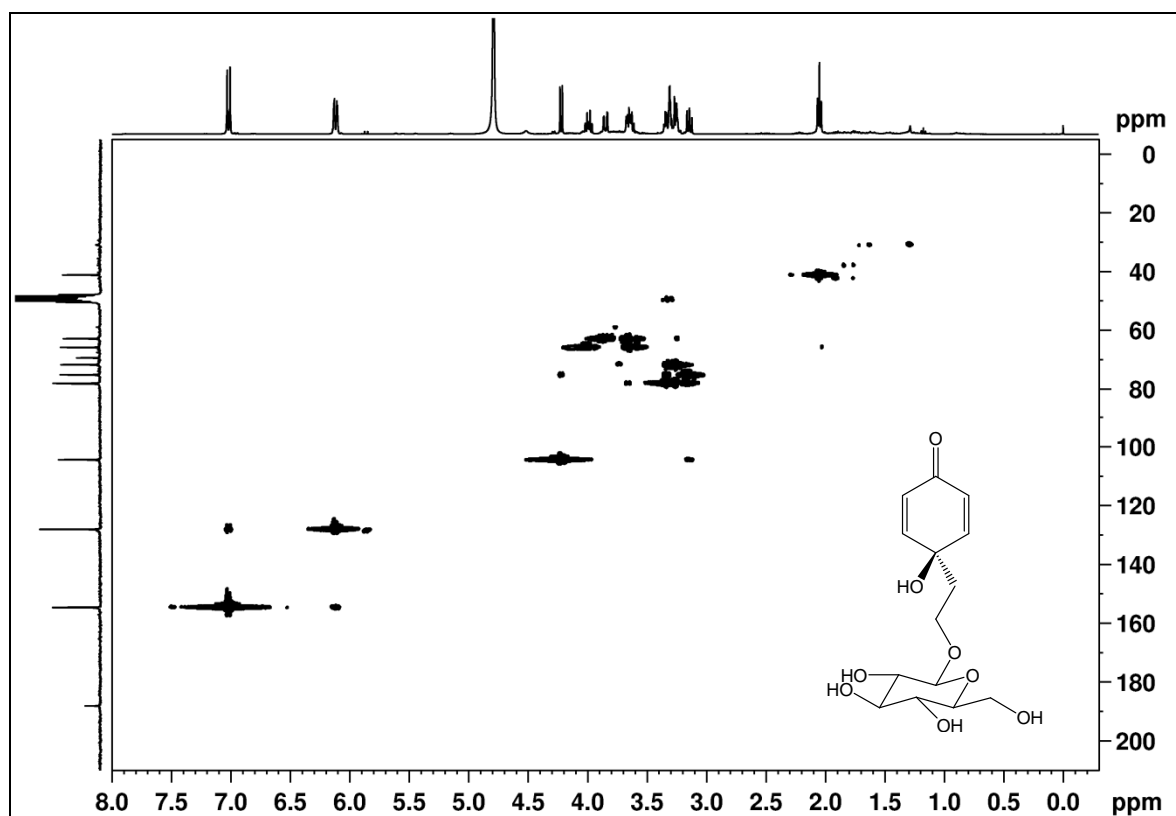


FIGURA 150. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S27** (MeOD, 400 MHz).

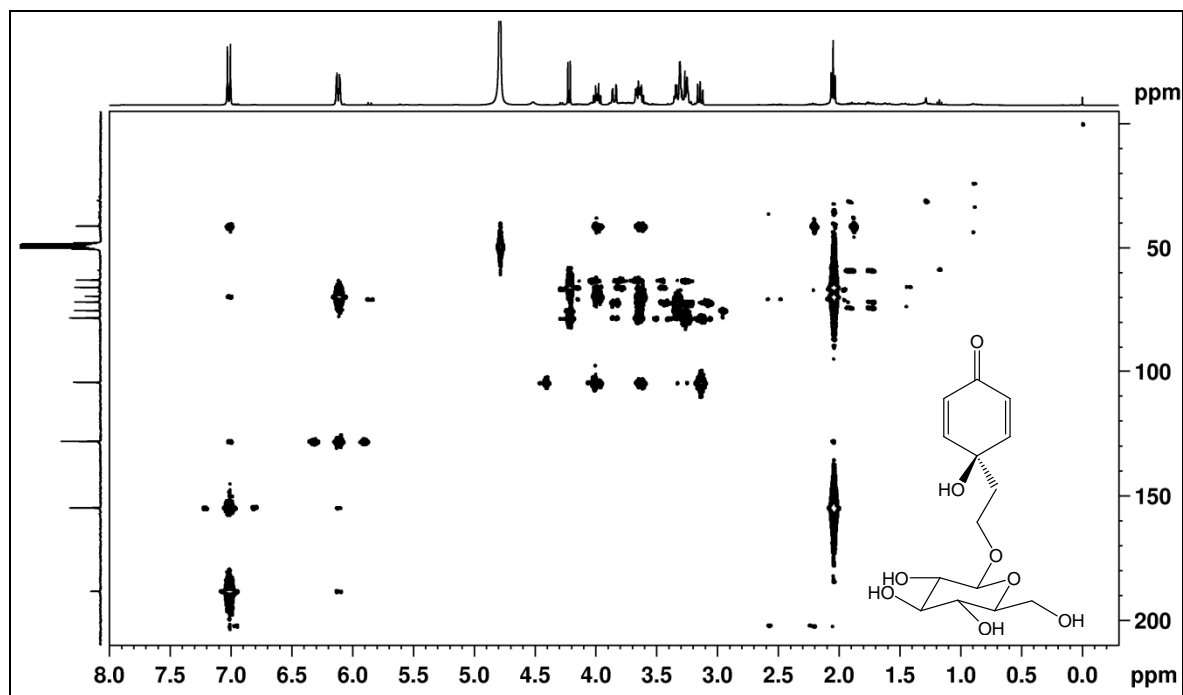


FIGURA 151. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S27** (MeOD, 400 MHz).

TABELA 34. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DE **S27** (MeOD, 400 MHz).

Posição	δ_{H} ; mult. (J em Hz)	δ_{C}	$^{\text{LD}}J_{\text{H,C}}$
1	-	188,1	-
2 e 6	6,11 <i>dm</i> (10,1)	128,1	1, 4, 6
3 e 5	7,02 <i>dt</i> (10,1:1,9)	154,6 e 154,7	1, 3, 4, 5, 6, 7
4	-	69,4	-
7	2,05 <i>t</i> (6,5)	41,1	3, 4, 5, 8
8a	3,64 <i>m</i>	65,8	4, 7, 1'
8b	3,99 <i>dt</i> (10,0:6,5)	65,8	4, 7, 1'
1'	4,22 <i>d</i> (7,7)	104,4	8, 2', 5'
2'	3,14 <i>dd</i> (8,7:7,7)	75,2	1', 3'
3'	3,35 <i>m</i>	78,2	2', 4'
4'	3,25 <i>m</i>	71,7	5', 6'
5'	3,25 <i>m</i>	78,1	3', 4', 6'
6'a	3,66 <i>m</i>	62,8	4', 5'
6'b	3,85 <i>m</i>	62,8	4'

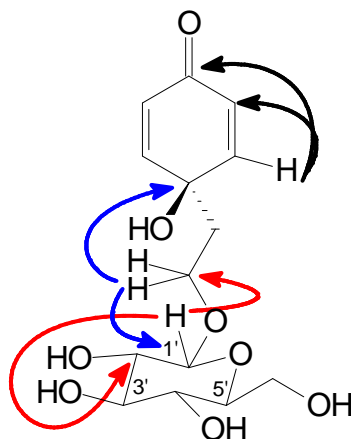


FIGURA 152. Principais correlações observadas no mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S27**.

4.7. FENÓLICOS SIMPLES (PARABENOS) - IDENTIFICAÇÃO DE **S28** E **S29**

As substâncias **S28** e **S29** foram isoladas em pequena quantidade como sólidos amarelos. Apresentaram espectros de RMN de ^1H muito semelhantes na região aromática, sendo dois sinais como dupletos ($J=8,8$ Hz) em δ 7,9 (H-2 e H-6) e 6,8 (H-3 e H-5), integrando para dois hidrogênios cada, típicos de substituição *para* no anel aromático. A principal diferença entre eles foi a presença no espectro de **S28** (Figura 153; página 203) de um simpleto em δ 3,89 (H-8), o qual, no espectro de **S29** (Figura 156; página 204), foi substituído por um quarteto em δ 4,34 ($J=7,2$ Hz, H-8), acompanhado de um tripleto em δ 1,38 ($J=7,2$ Hz, H-9). Portanto, **S28** tinha um grupo metoxila, enquanto **S29** tinha um grupo etoxila. Nos mapas de correlação ^1H - ^{13}C direta (Figura 154; página 203) e a longa distância (Figura 155; página 204) de **S28**, pode-se observar que o hidrogênio em δ 7,96 (H-2 e H-6) está ligado ao carbono em δ 131,9 e faz correlação com os carbonos em δ 159,0 (C-4) e 167,4 (C-7), enquanto que os hidrogênios em δ 3,89 (H-8) estão ligados ao carbono em δ 52,0 e fazem correlação com o carbono em δ 167,4 (C-7). Pelos mapas de correlação ^1H - ^{13}C direta (Figura 157; página 205) e a longa distância (Figura 158; página 205) de **S29**, pode-se observar que o hidrogênio em δ 7,96 (H-2 e H-6) está ligado ao carbono em δ 131,8 e faz correlação com os carbonos em δ 131,8 (C-2 e C-6), 159,7 (C-4) e 166,5 (C-7), enquanto que os hidrogênios em δ 4,34 (H-8) estão ligados ao

carbono em δ 60,7 e fazem correlação com os carbonos em δ 14,3 (C-9) e 166,5 (C-7). A análise dos demais dados obtidos dos experimentos de RMN bidimensionais (Tabela 35; página 202; Figura 159; página 206) levou a identificação de **S28** como o *p*-hidroxibenzoato de metila, também conhecido como metilparabeno (LI *et al.*, 2003; KANNATHASAN *et al.*, 2011), que já foi isolado de várias espécies, incluindo *Palicourea coriacea* (DA SILVA *et al.*, 2008) e **S29** como o *p*-hidroxibenzoato de etila, conhecido como etilparabeno (SCOTT, 1972; LI *et al.*, 2003). Compostos fenólicos desse tipo são muito usados como conservante em alimentos, cosméticos, etc, pois possuem uma boa atividade antimicrobiana (CAO *et al.*, 2013).

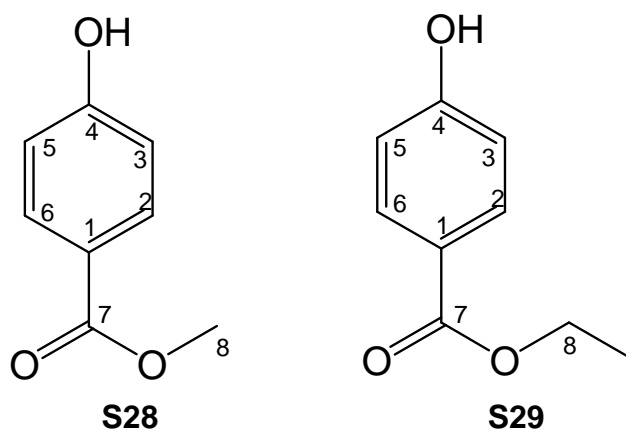


TABELA 35. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DE **S28** E **S29** (CDCl_3 , 400 MHz).

Posição	S28		S29		$^{\text{LD}} J_{\text{H,C}}$
	δ_{H} ; mult. (J em Hz)	δ_{C}	δ_{H} ; mult. (J em Hz)	δ_{C}	
1	-	123,0	-	123,2	-
2, 6	7,96 d (8,8)	131,9	7,96 d (8,8)	131,8	2, 4, 6, 7
3, 5	6,86 d (8,8)	115,2	6,85 d (8,8)	115,1	1, 3, 4, 5
4	-	159,0	-	159,7	-
7	-	167,4	-	166,5	-
8	3,89 s	52,0	4,34 q (7,2)	60,7	7, 9
9	-	-	1,38 t (7,2)	14,3	8

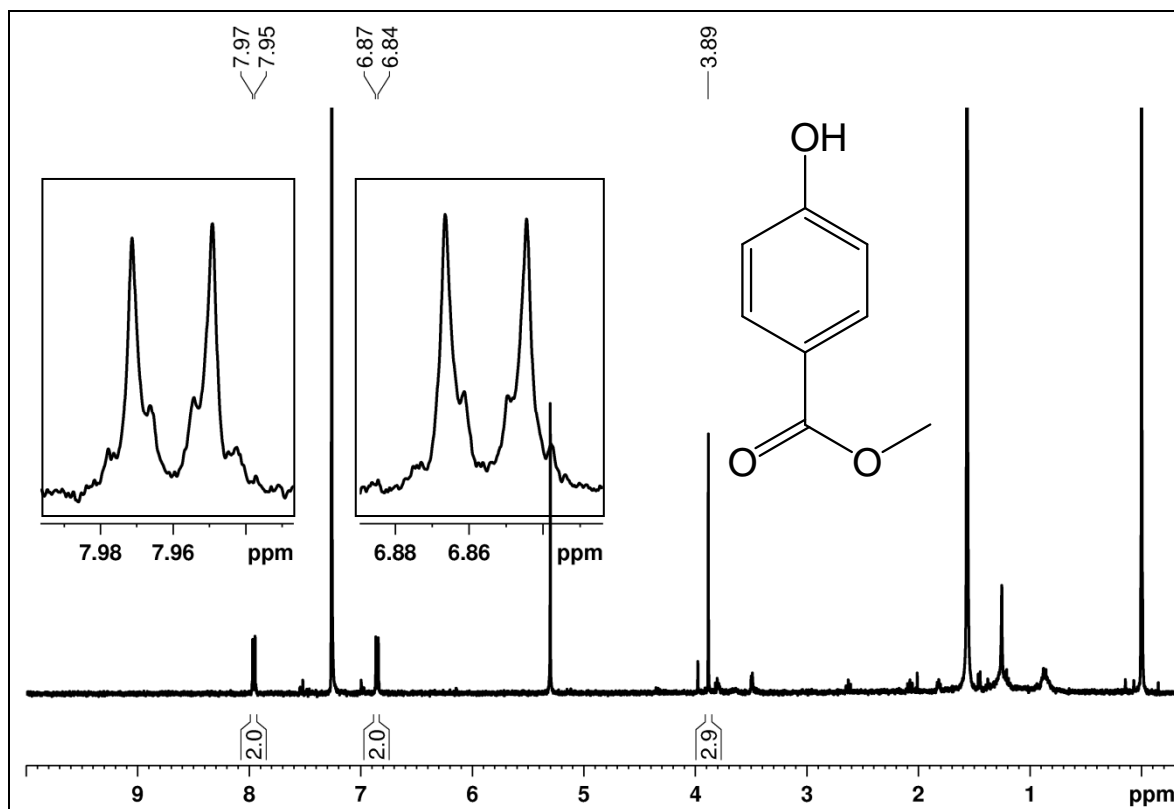


FIGURA 153. Espectro de RMN de ^1H de **S28** com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz).

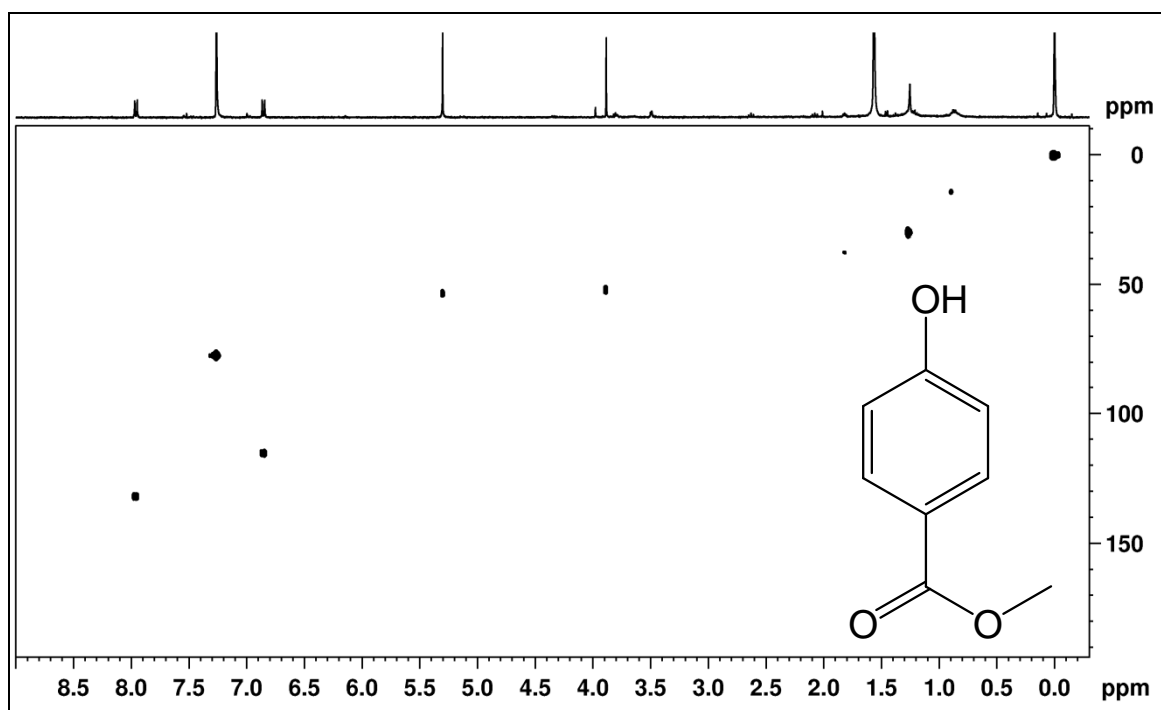


FIGURA 154. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S28** (CDCl_3 , 400 MHz).

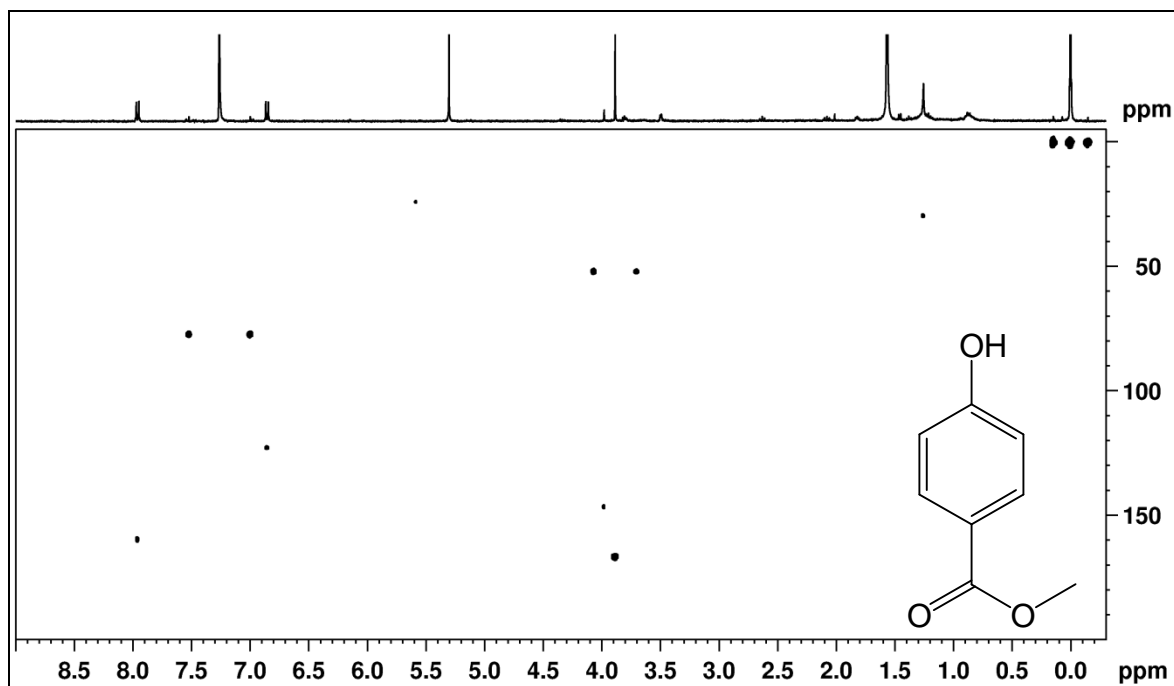


FIGURA 155. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S28** (CDCl_3 , 400 MHz).

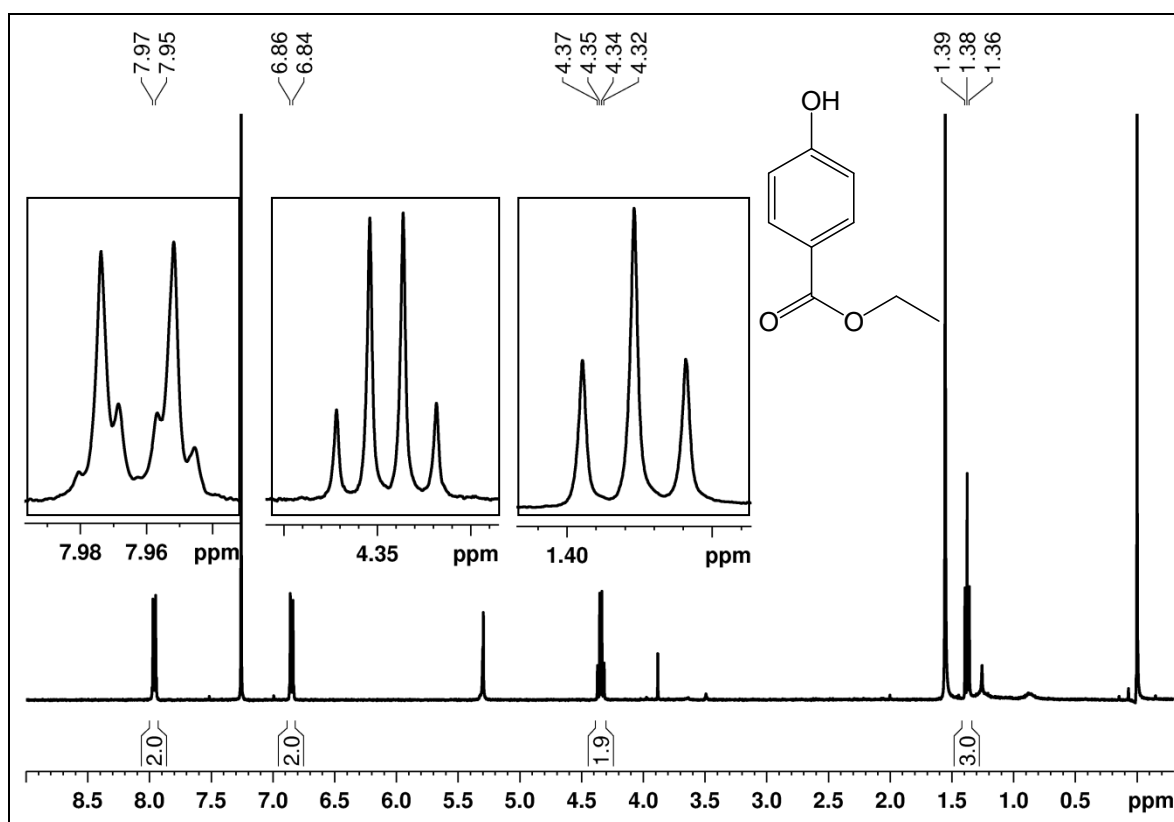


FIGURA 156. Espectro de RMN de ^1H de **S29** com ampliações (CDCl_3 , 400 MHz).

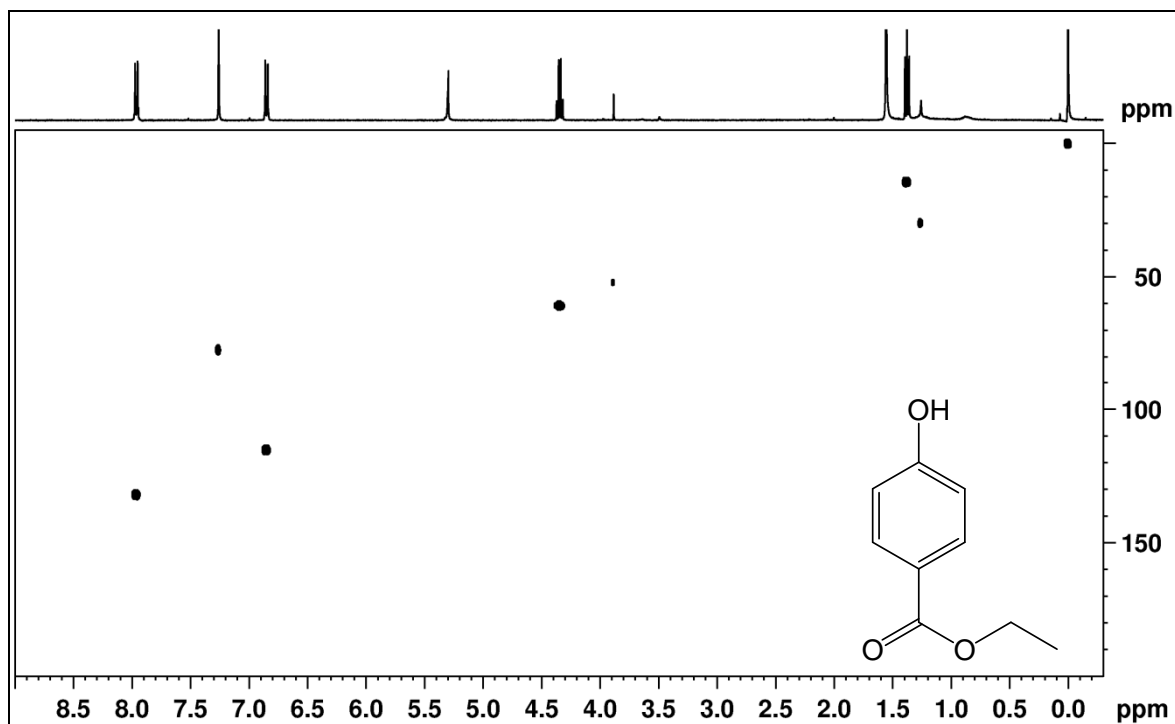


FIGURA 157. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S29** (CDCl_3 , 400 MHz).

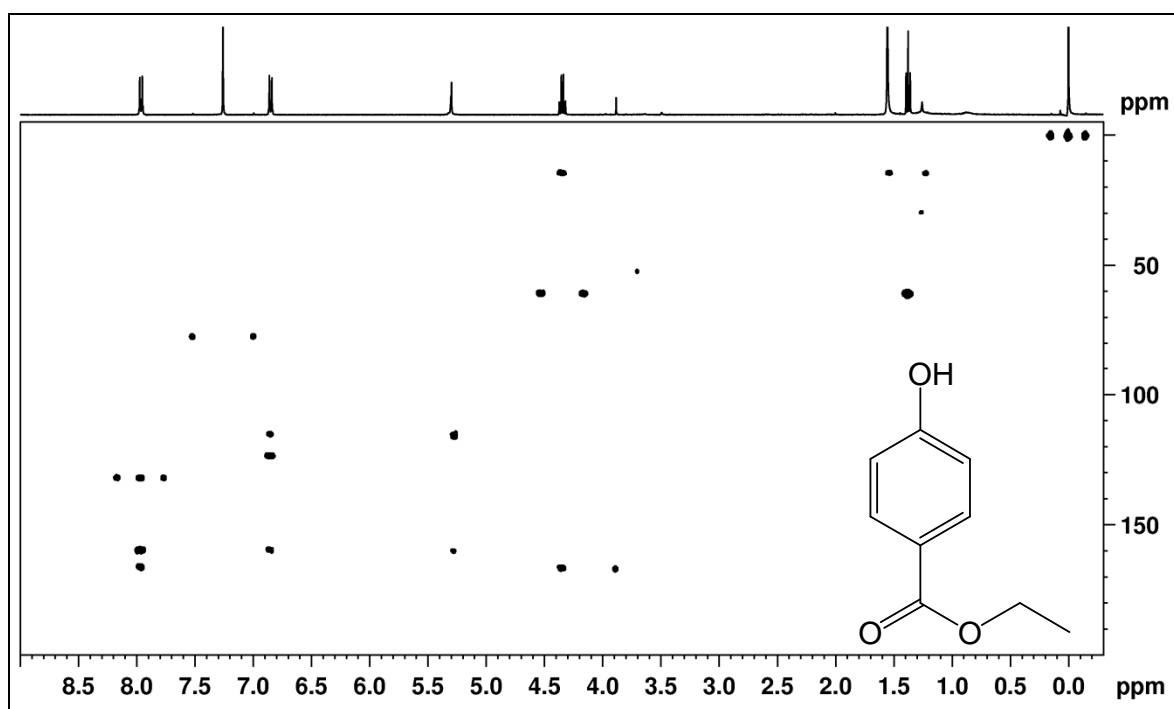


FIGURA 158. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S29** (CDCl_3 , 400 MHz).

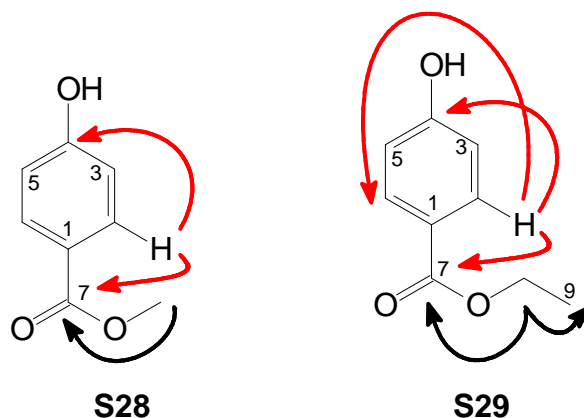


FIGURA 159. Principais correlações observadas nos mapas de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S28** e **S29**.

As duas substâncias foram submetidas à análise por espectrometria de massas de baixa resolução no modo negativo. O espectro de **S28** (Figura 160; página 207) apresentou um pico com m/z 151,02, que corresponde à fórmula molecular $\text{C}_8\text{H}_7\text{O}_3$. O íon molecular foi fragmentado (Figura 161; página 207) e resultou em um pico com m/z 135,96 ($[\text{M}-\text{CH}_3]^-$), que é pela saída do grupo metila, e esse, fragmentado, resultou no pico com m/z 91,82 ($[\text{M}-\text{CO}_2]^-$), que é a saída da carboxila, esses fragmentos estão mostrados a seguir (Figura 162; página 208). Para **S29**, o espectro de massas (Figura 163; página 208) apresentou um pico com m/z 165,12, equivalente à fórmula molecular $\text{C}_9\text{H}_9\text{O}_3$. Esse pico foi fragmentado (Figura 164; página 208), resultando no pico com m/z 136,94 ($[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_4]^-$) referente à saída do grupo etila e na sequência, esse fragmentado resultou no pico com m/z 92,91 ($[\text{M}-\text{CO}_2]^-$), que é a saída da carboxila (Figura 165; página 208).

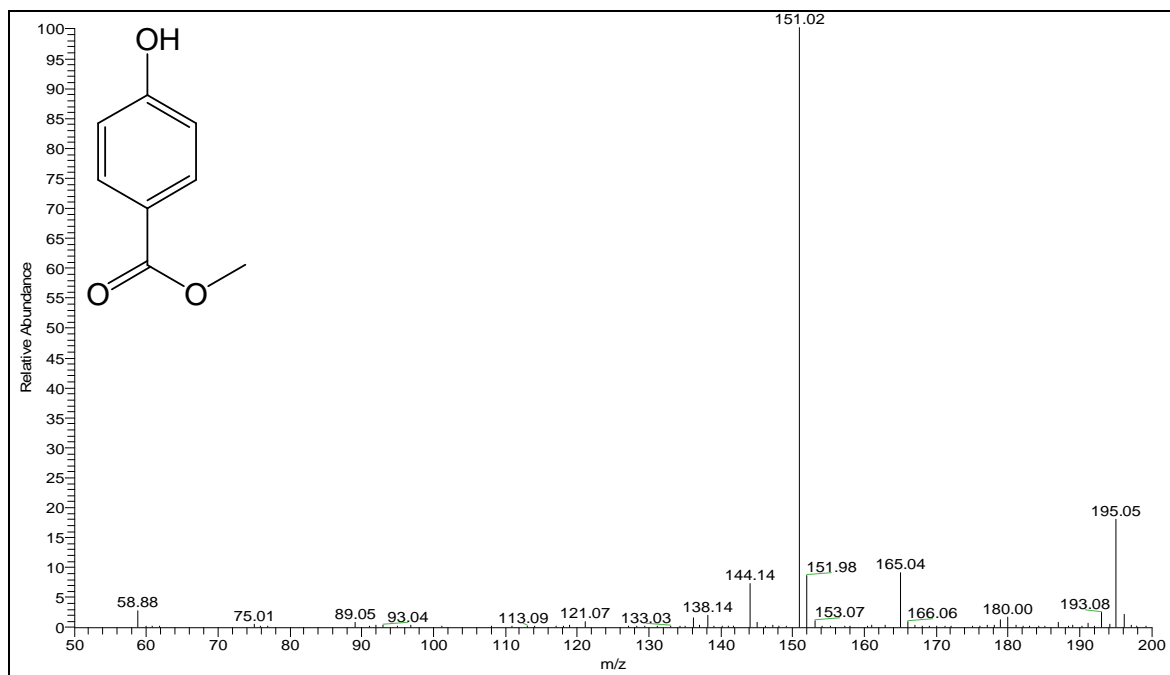


FIGURA 160. Espectro de massas de baixa resolução no modo negativo ($[M-H]^-$) de **S28**.

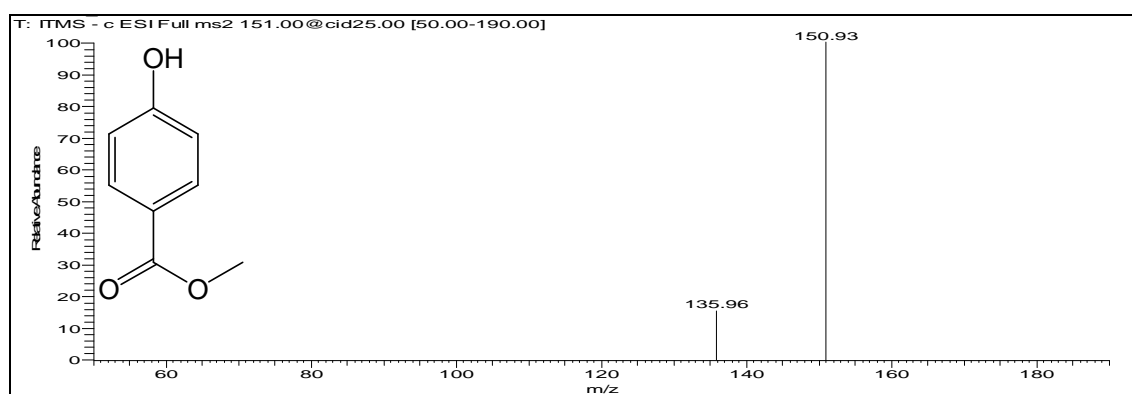


FIGURA 161. Espectro de massas da fragmentação do íon molecular de **S28** (MS^2).

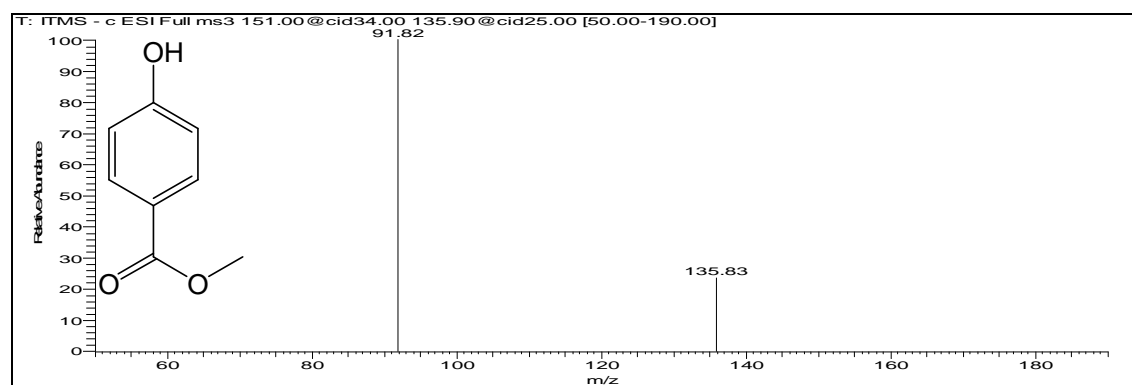


FIGURA 162. Espectro de massas da fragmentação do íon m/z 135,83 ($[M-CH_3]^+$) de **S28** (MS^3).

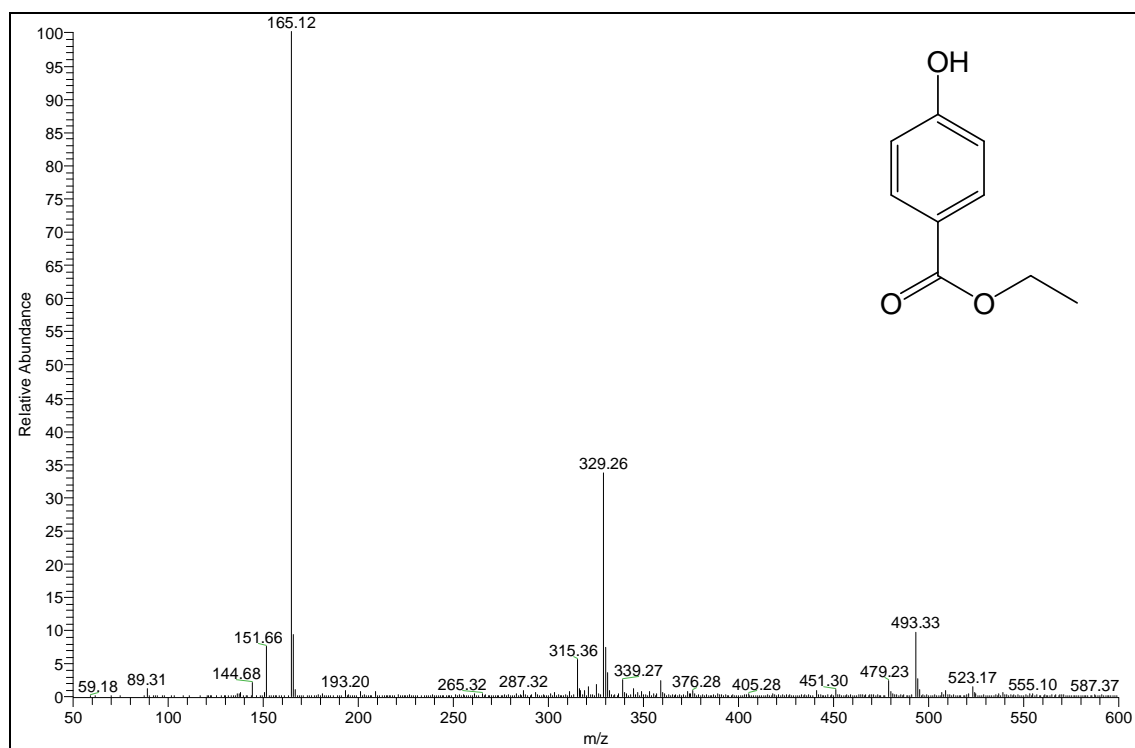


FIGURA 163. Espectro de massas de baixa resolução no modo negativo ($[M-H]^-$) de **S29**.

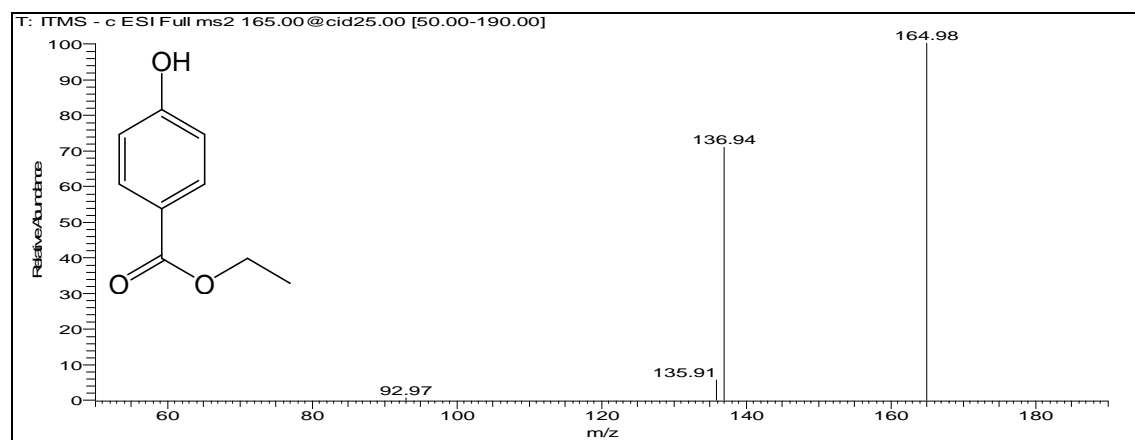


FIGURA 164. Espectro de massas da fragmentação do íon molecular de **S29** (MS^2).

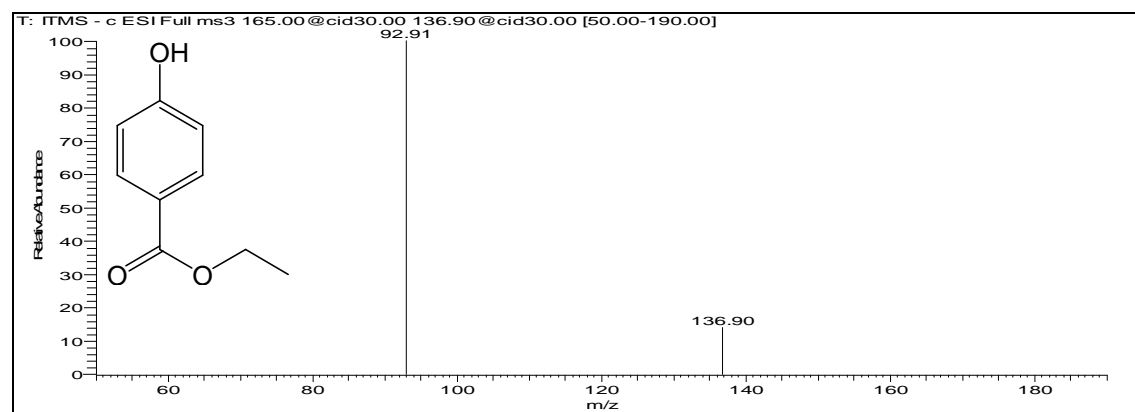


FIGURA 165. Espectro de massas da fragmentação do íon m/z 136,90 ($[M-C_2H_4]^-$) de **S29** (MS^3).

4.8. GLICOSÍDEOS - IDENTIFICAÇÃO DE **S30**, **S31**, **S32**, **S33**, **S34** E **S35**

O espectro de RMN de ^1H (Figura 166; página 210) da substância **S30** apresentou os sinais típicos de uma unidade de glucose, juntamente com os sinais de um grupo etoxila em δ 3,95 e 3,61 (H-7) como duplo dupletos ($J=9,6$ e $7,1$ Hz) e 1,23 (H-8) também como um duplo duplete ($J=7,1$ e $7,1$ Hz). O espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (Figura 167; página 210) apresentou oito sinais entre δ 102,7 a 14,0. Pelos mapas de correlação ^1H - ^{13}C direta e a longa distância (Figuras 168-169; páginas 211; Tabela 36; página 209), pode-se observar que o hidrogênio em δ 4,26 (H-1) está ligado ao carbono em δ 102,7, e faz correlação com o carbono em δ 64,8 (C-7), que por sua vez, está ligado aos hidrogênios em δ 3,95 e 3,61 (Figura 170; página 212). Portanto, o grupo etoxila está ligado ao carbono anomérico da glucose. As demais correlações confirmaram **S30** como sendo etil- β -D-glucopiranosídeo (TIITINEN *et al.*, 2006).

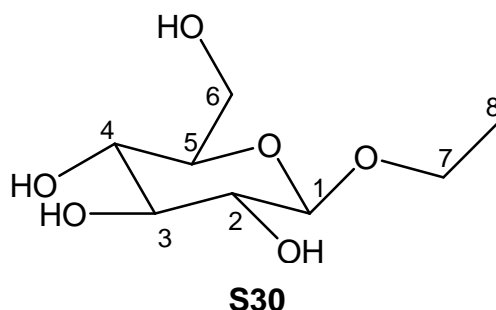


TABELA 36. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DE **S30** (MeOD, 400 MHz).

Posição	δ_{H} ; mult. (J em Hz)	δ_{C}	$^{\text{LD}}J_{\text{H,C}}$
1	4,26 <i>d</i> (7,8)	102,7	2, 3, 7
2	3,16 <i>dd</i> (9,1:7,8)	73,7	1, 3
3	3,35 <i>t</i> (9,1)	76,7	4
4	3,27 <i>m</i>	70,2	3
5	3,26 <i>m</i>	76,5	4
6	3,66 <i>dd</i> (11,9:5,5) e 3,86 <i>dd</i> (11,9:2,0)	61,3	4, 5
7	3,61 e 3,95 <i>dd</i> (9,6:7,1)	64,8	1, 8
8	1,23 <i>dd</i> (7,1:7,1)	14,0	7

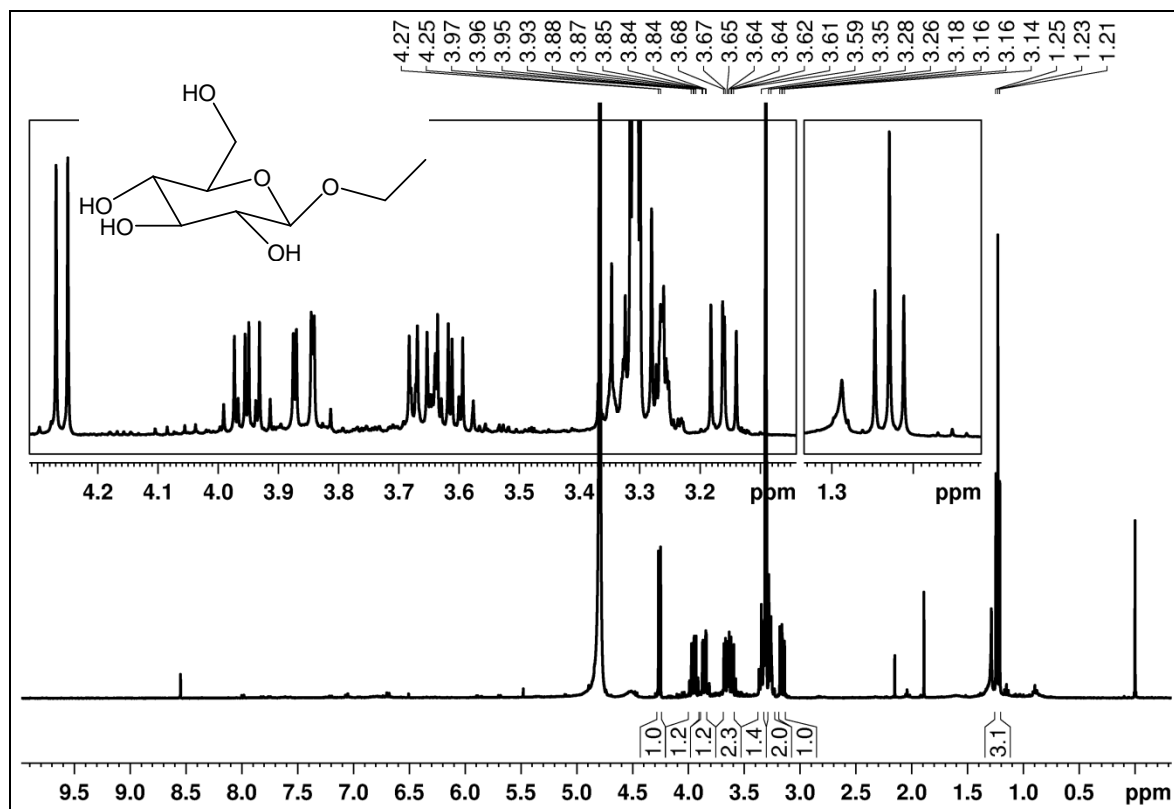


FIGURA 166. Espectro de RMN de ^1H de **S30** com ampliações (MeOD, 400 MHz).

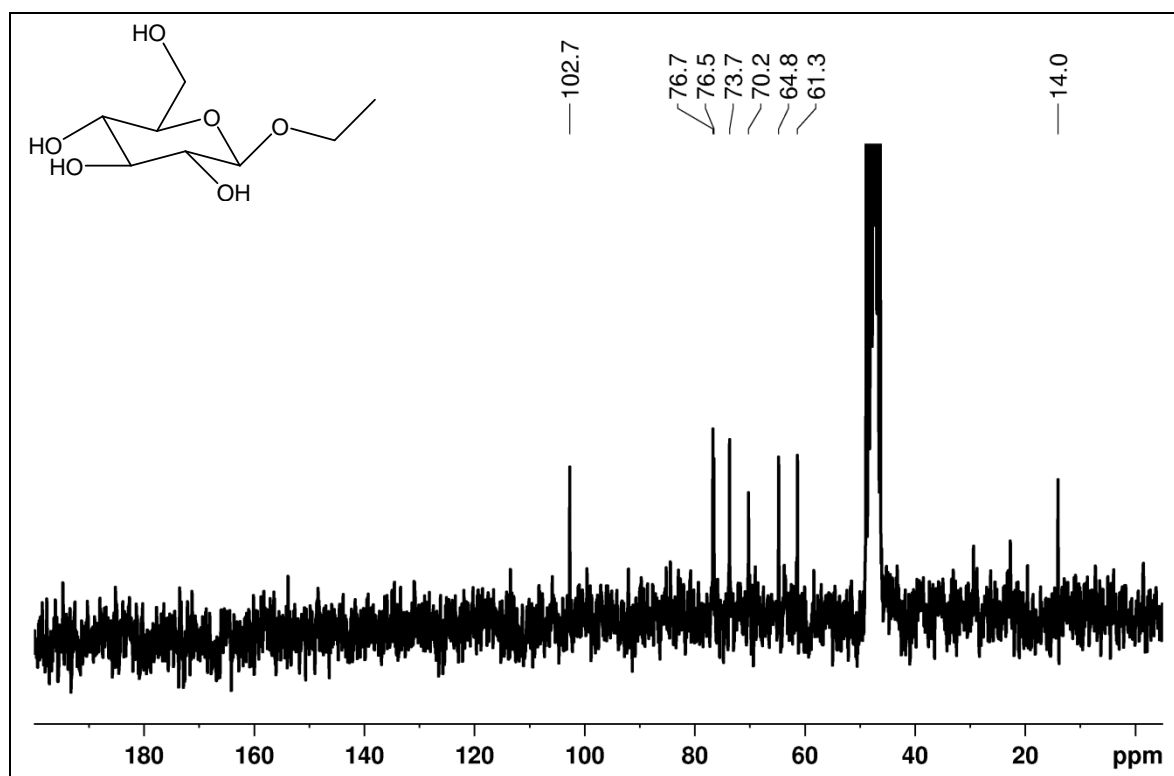


FIGURA 167. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de **S30** (MeOD, 50 MHz).

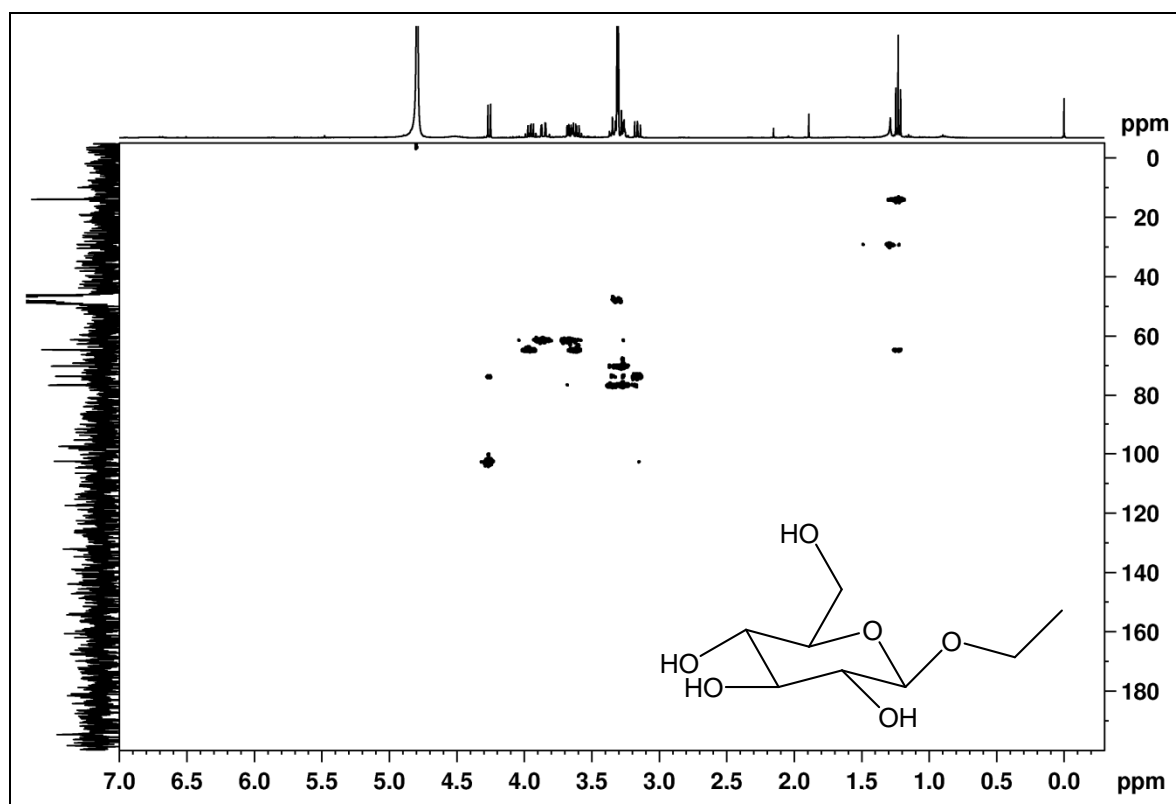


FIGURA 168. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S30** (MeOD, 400 MHz).

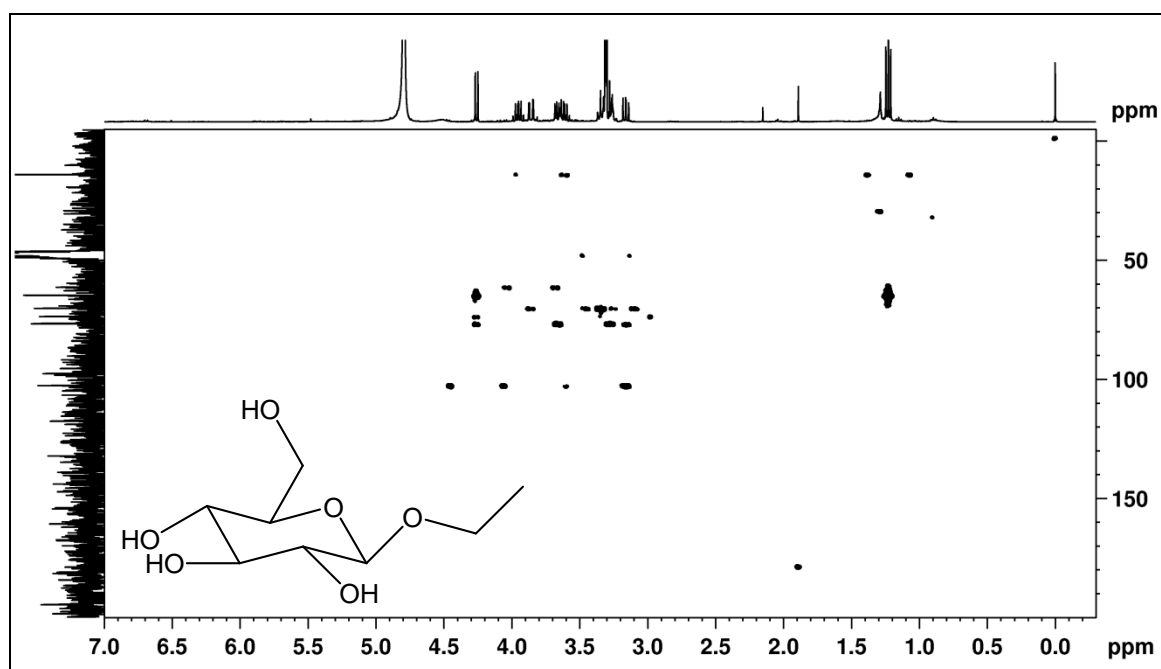


FIGURA 169. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S30** (MeOD, 400 MHz).

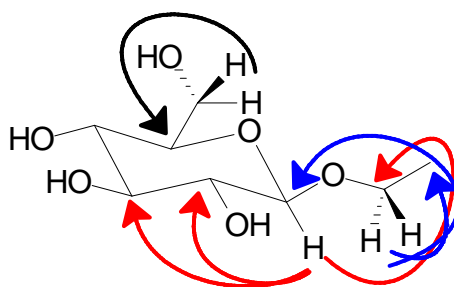
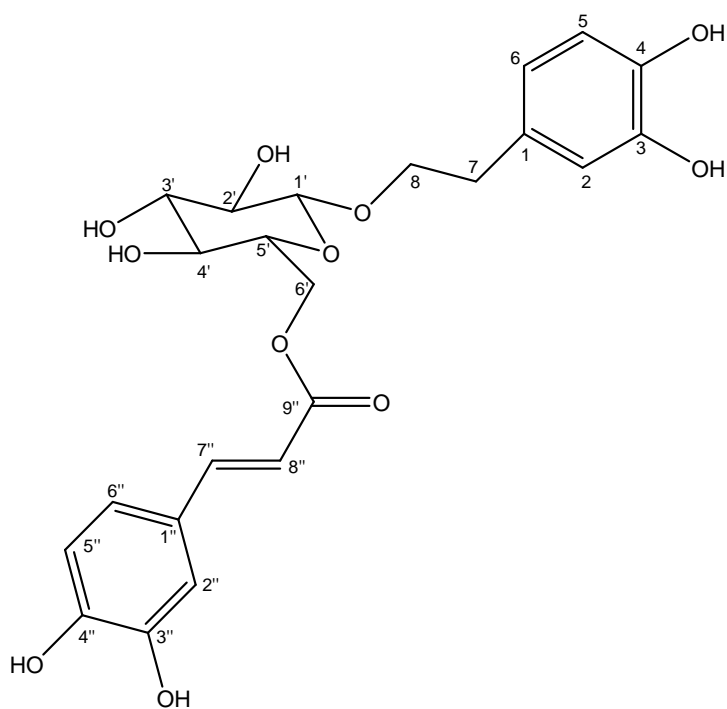


FIGURA 170. Principais correlações observadas nos mapas de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S30**.

As substâncias **S31** a **S35** foram isoladas como sólidos avermelhados, sendo que somente **S31** foi obtida pura. Todas são conhecidas, e já foram descritas anteriormente em espécies da família Gesneriaceae.

A substância **S31** apresentou no seu espectro de RMN de ^1H (Figuras 171-173; páginas 214-215) sinais característicos de um grupo cafeoíla (δ 7,56 (H-7''), *d*, *J*=15,9 Hz; 7,04 (H-2''), *d*, *J*=1,9 Hz; 6,87 (H-6''), *dd*, *J*=8,2 e 1,9 Hz; 6,77 (H-5''), *d*, *J*=8,2 Hz e 6,28 (H-8''), *d*, *J*=15,9 Hz), um grupo 3,4-diidroxi-1-etoxifenila (δ 6,68 (H-2), *d*, *J*=1,9 Hz; 6,64 (H-5), *d*, *J*=8,0 Hz; 6,55 (H-6), *dd*, *J*=8,0 e 1,9 Hz; 3,96 (H-8), *m*; 3,70 (H-8), *m* e 2,78 (H-7), *t*, *J*=7,6 Hz) e vários multipletos de hidrogênios oximetínicos e oximetilênicos (δ 4,54 (H-6'b), *dd*, *J*=12,0 e 1,8 Hz; 4,37 (H-6'a) *dd*, *J*=12,0 e 5,9 Hz; 4,33 (H-1'), *d*, *J*=7,6 Hz; 3,52 (H-5'), *m*; 3,40 (H-3'), *m*; 3,39 (H-4'), *m* e 3,23 (H-2'), *m*), característicos de uma unidade de β -glucose. O espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (Figura 174; página 215) apresentou 23 picos, incluindo um pico em δ 105,0 (C-1'), característico do carbono anomérico da β -glucose e outro em δ 169,7 (C-9''), que corresponde ao grupo carbonila da unidade cafeoíla. Esses dados apontaram para um glicosídeo fenólico. A posição dos grupos foi determinada por análise dos experimentos de RMN bidimensionais. Pelo experimento de correlação ^1H - ^{13}C direta (Figura 175; página 216) pode-se observar que o hidrogênio em δ 7,56 (H-7'') está ligado ao carbono em δ 147,7, o hidrogênio em δ 6,64 (H-5) está ligado ao carbono em δ 117,0, o hidrogênio em δ 4,33 (H-1') está ligado ao carbono em δ 105,0, e os hidrogênios em δ 3,70 e 3,96 (H-8) estão ligados ao carbono em δ 72,8. Pode ser visualizado no experimento de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância (Figura 176; página 216) que o hidrogênio em δ 7,56 faz correlação com os carbonos em δ 115,5 (C-2''), 123,6 (C-6''), 128,1 (C-1'') e 169,7 (C-9'') (carbonila de éster),

enquanto que o hidrogênio em δ 6,77 (H-5'') faz correlações com os carbonos em δ 128,1 (C-1''), 147,2 (C-3'') e 150,0 (C-4''), confirmando a unidade cafeoíla. De forma semelhante, pode-se observar que o hidrogênio em δ 6,64 (H-5) faz correlações com os carbonos em δ 131,9 (C-1), 145,1 (C-4) e 146,5 (C-3), enquanto que o hidrogênio em δ 3,96 (H-8) faz correlação com os carbonos em δ 37,1 (C-7), 105,0 (C-1') e 131,9 (C-1), confirmando a unidade 3,4-diidroxil-1-etoxifenila e mostrando que a mesma está ligada ao carbono anomérico da glucose. Por sua vez, o hidrogênio em δ 4,37 (H-6'a) faz correlações com os carbonos em δ 72,2 (C-4'), 75,9 (C-5') e 169,7 (C-9''), mostrando que o grupo cafeoíla está ligado ao carbono 6 da glucose (Tabela 37; página 221, Figura 177; página 217). Desta forma, **S31** foi identificado como calceolariosídeo B (DAMTOFT; JENSEN, 1994).

**S31**

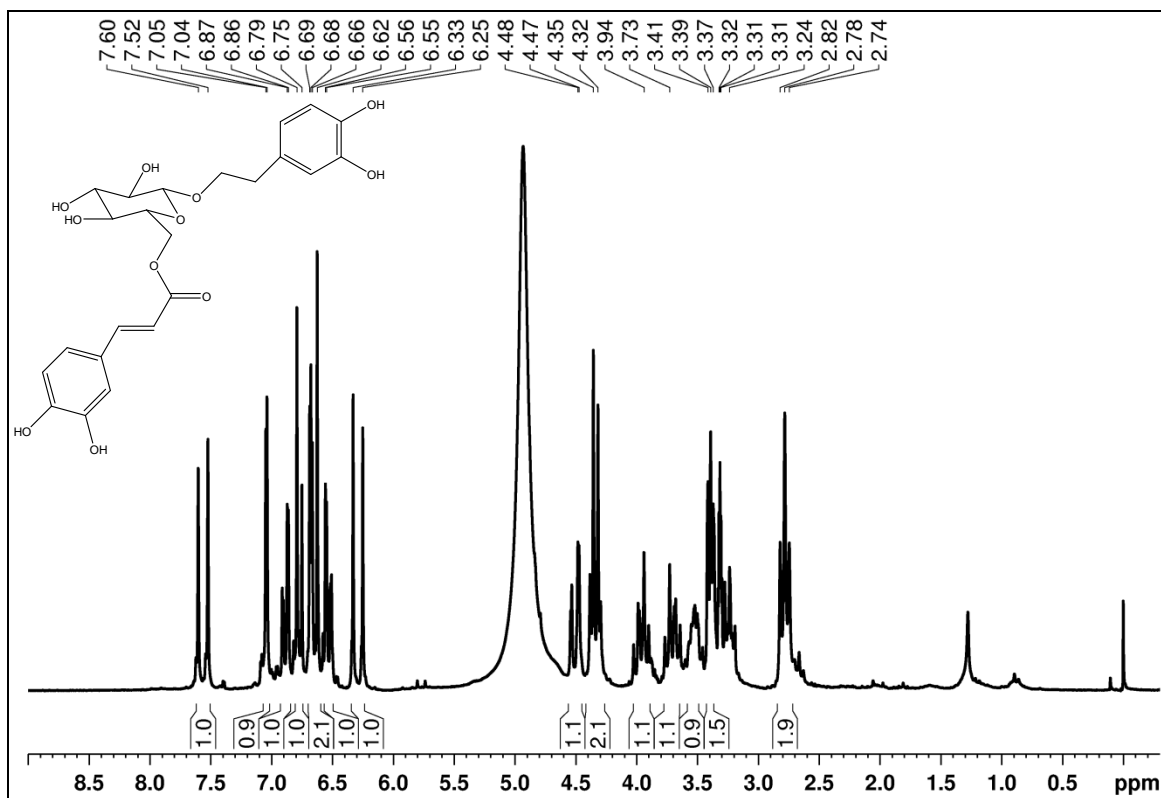


FIGURA 171. Espectro de RMN de ^1H de **S31** (MeOD, 400 MHz).

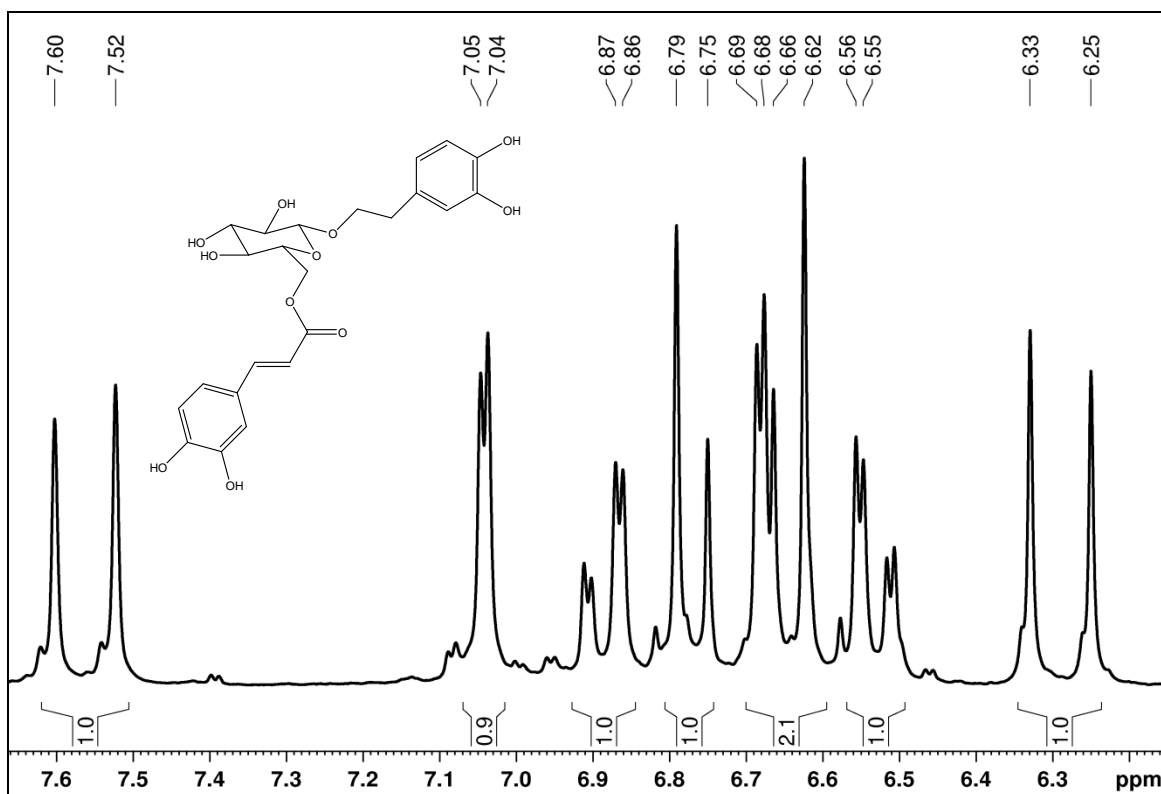


FIGURA 172. Ampliação da região entre δ 7,66 e 6,15 do espectro de RMN de ^1H de **S31** (MeOD, 400 MHz).

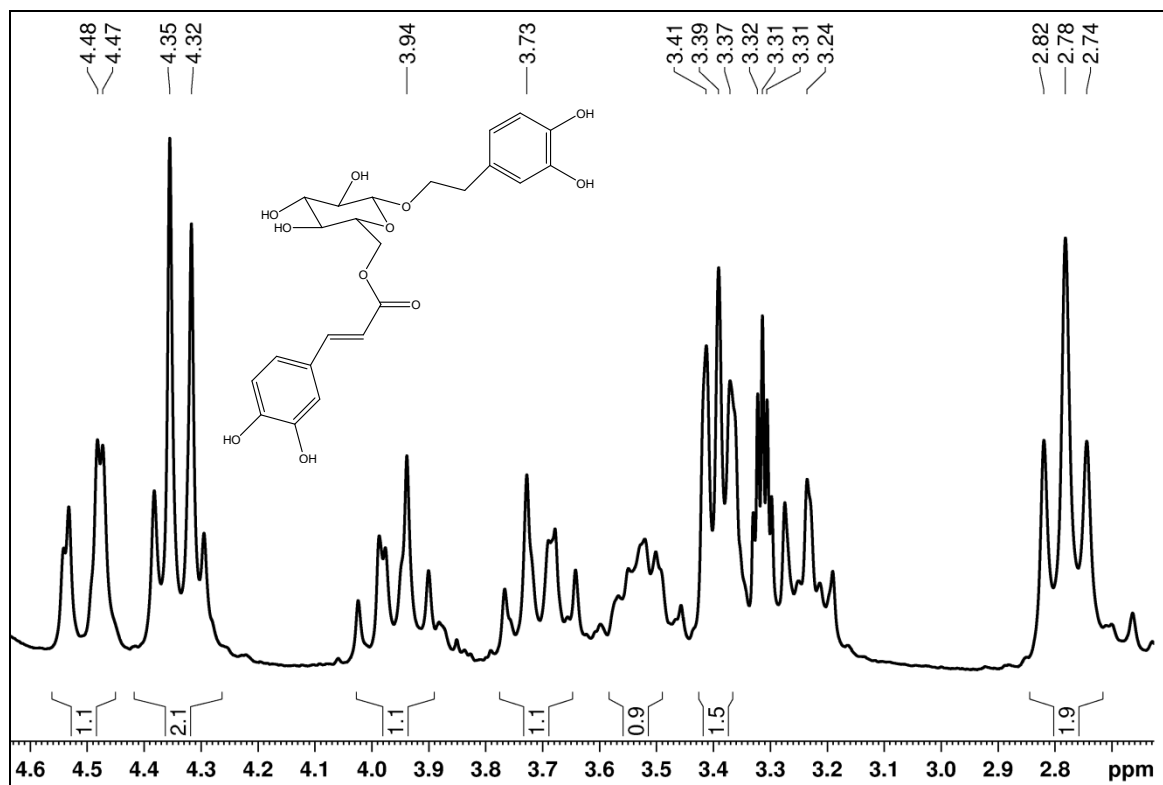


FIGURA 173. Ampliação da região entre δ 4,63 e 2,62 do espectro de RMN de ^1H de **S31** (MeOD, 400 MHz).

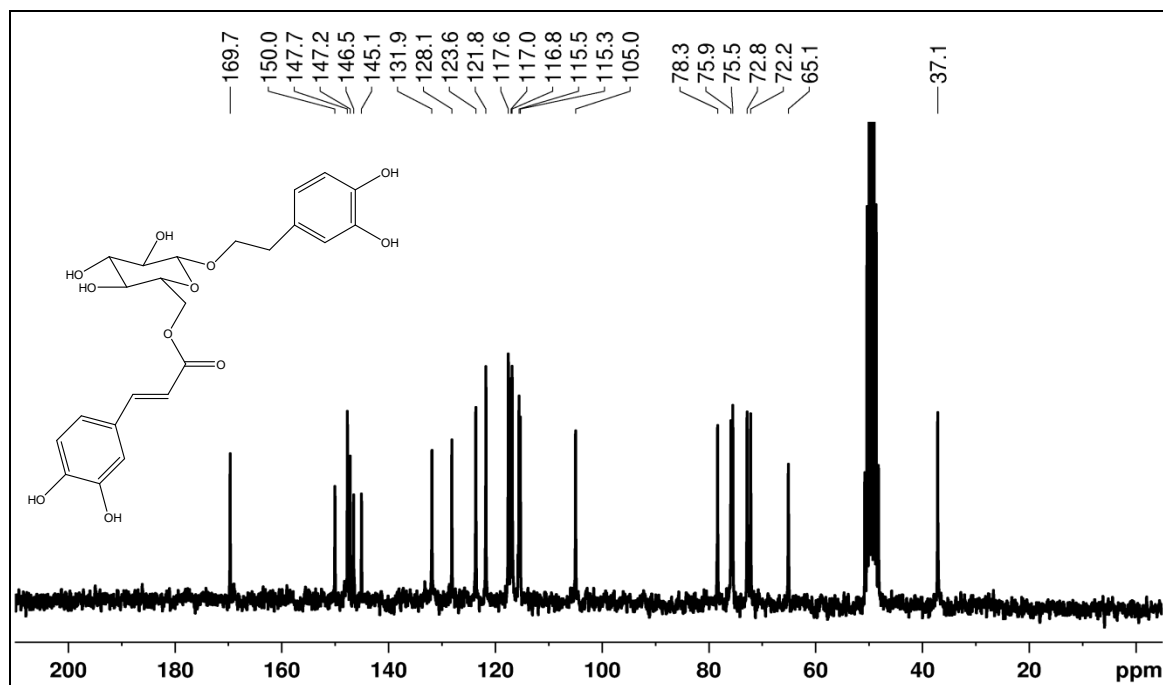


FIGURA 174. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de **S31** (MeOD, 50 MHz).

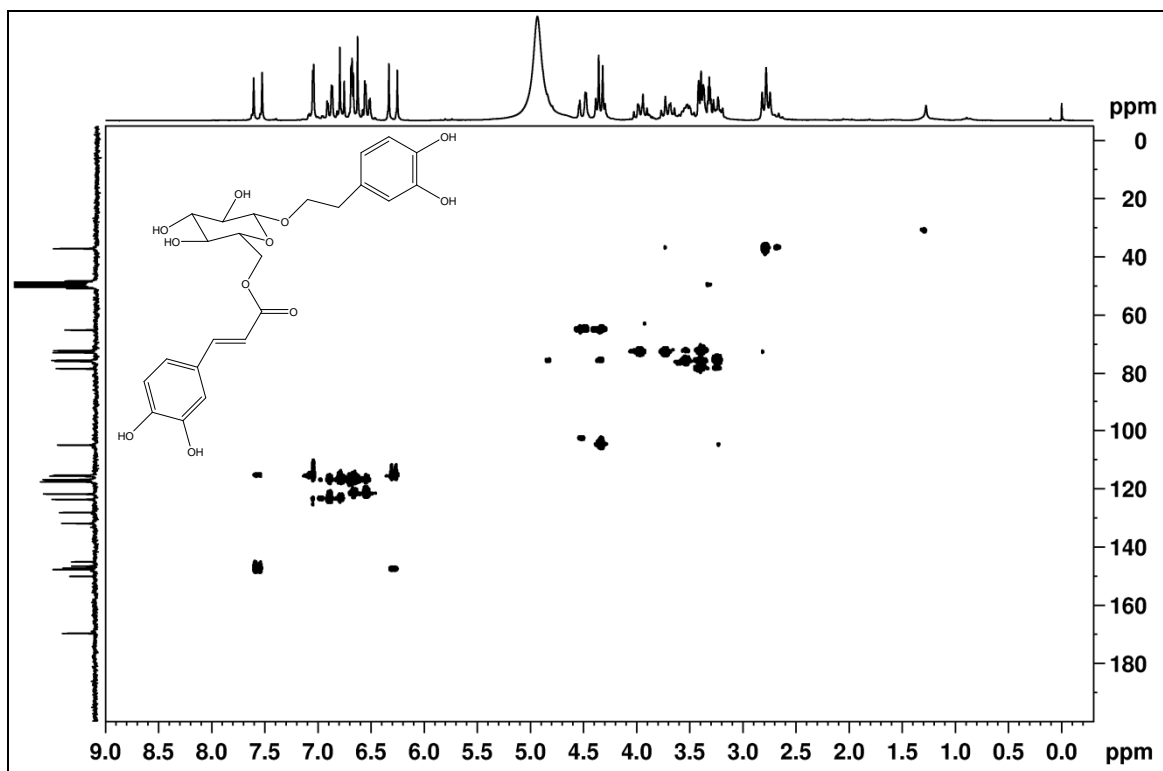


FIGURA 175. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S31** (MeOD, 400 MHz).

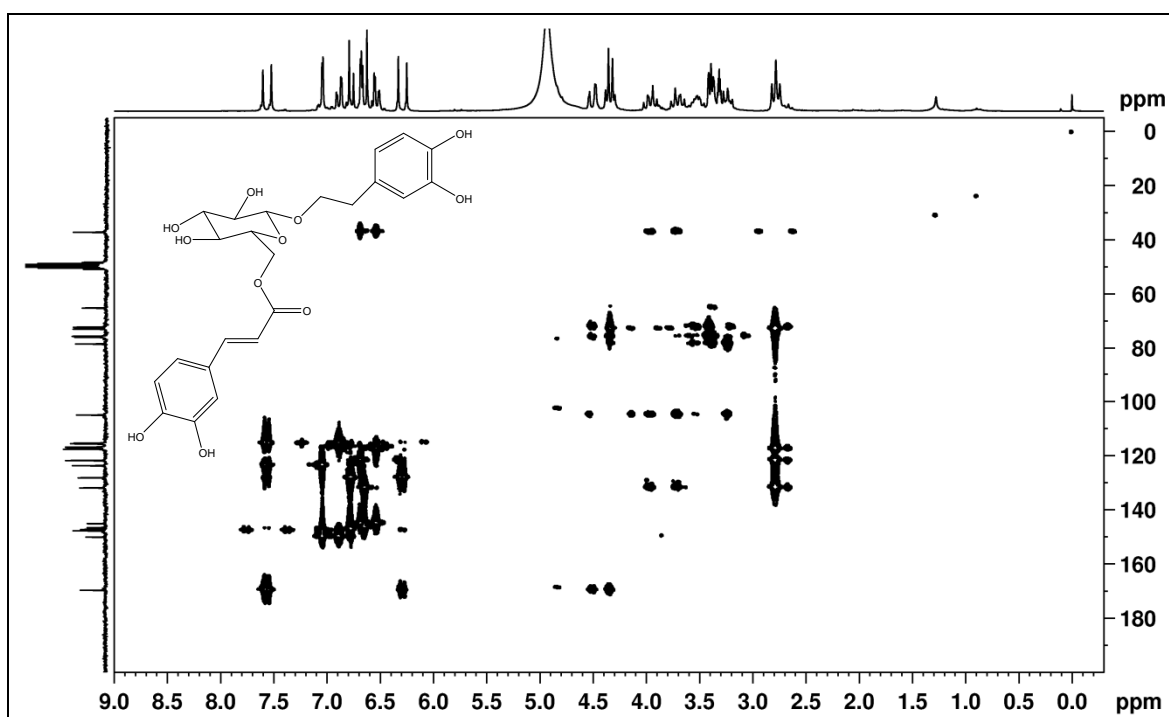


FIGURA 176. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S31** (MeOD, 400 MHz).

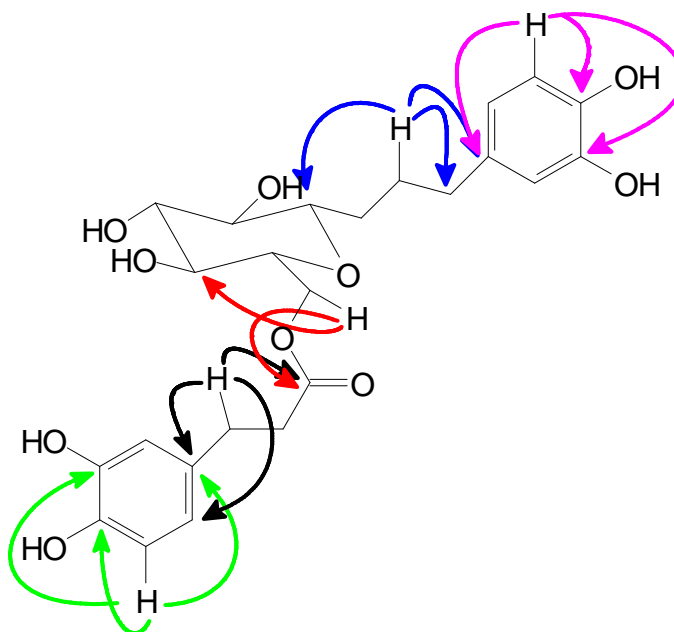


FIGURA 177. Principais correlações observadas nos mapas de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S31**.

As substâncias **S32** e **S33** foram obtidas em mistura, e diferem de **S31** pela posição ocupada pelos grupos cafeoila no anel de β -glucose. No espectro de RMN de ^1H de **S32** + **S33** (Figura 178; página 218) pode-se observar a presença de uma mistura de dois glicosídeos fenólicos, pois há quatro hidrogênios correspondentes à ligação dupla em *trans* da unidade cafeoíla (δ 6,29, 6,33, 7,59, 7,59) e dois hidrogênios anoméricos (δ 4,37 e 4,42). Pelos mapas de correlação ^1H - ^{13}C direta (Figura 179; página 219) e a longa distância (Figura 180; página 219) pode-se observar que o hidrogênio em δ 4,82 (*d*, $J=9,3$ Hz, H-4') está ligado ao carbono em δ 72,4 e faz correlação com os carbonos em δ 168,7 (C-9''), 76,0 (C-5') e 62,3 (C-6'), o hidrogênio em δ 5,04 (*d*, $J=9,4$ Hz, H-3') está ligado ao carbono em δ 78,9 e faz correlação com os carbonos em δ 69,8 (C-4'), 73,4 (C-2') e 169,0 (C-9''). Com esses experimentos também pode ser observado que o hidrogênio em δ 4,37 (*d*, $J=7,8$ Hz, H-1') está ligado ao carbono em δ 104,3 e faz correlação com o carbono em δ 72,0 (C-8) e o hidrogênio em δ 4,42 (*d*, $J=7,9$ Hz, H-1') está ligado ao carbono em δ 104,2 e faz correlação com o carbono em δ 72,0 (C-8) (Tabela 37; página 221; Figura 181; página 220). Com essas e outras correlações extraídas dos espectros de RMN e uma busca na literatura, **S32** e **S33** foram identificadas como sendo calceolariosídeo A e plantainosídeo A, respectivamente (DAMTOFT; JENSEN, 1994).

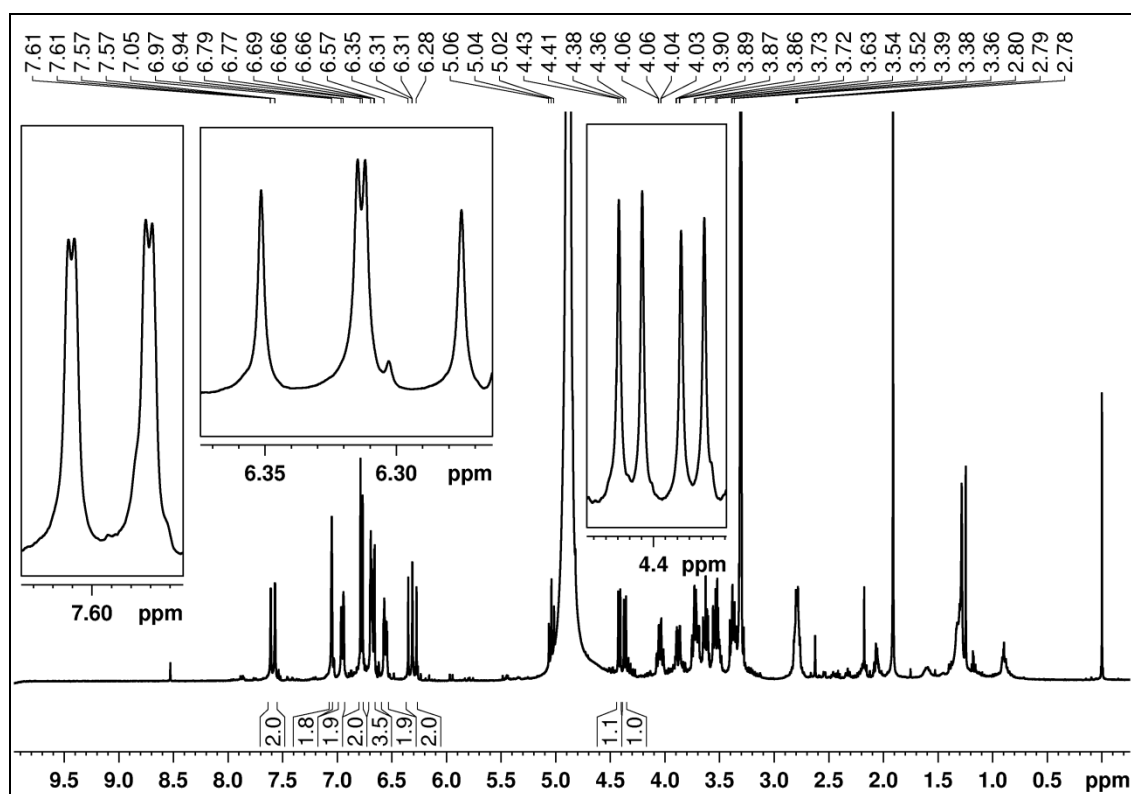
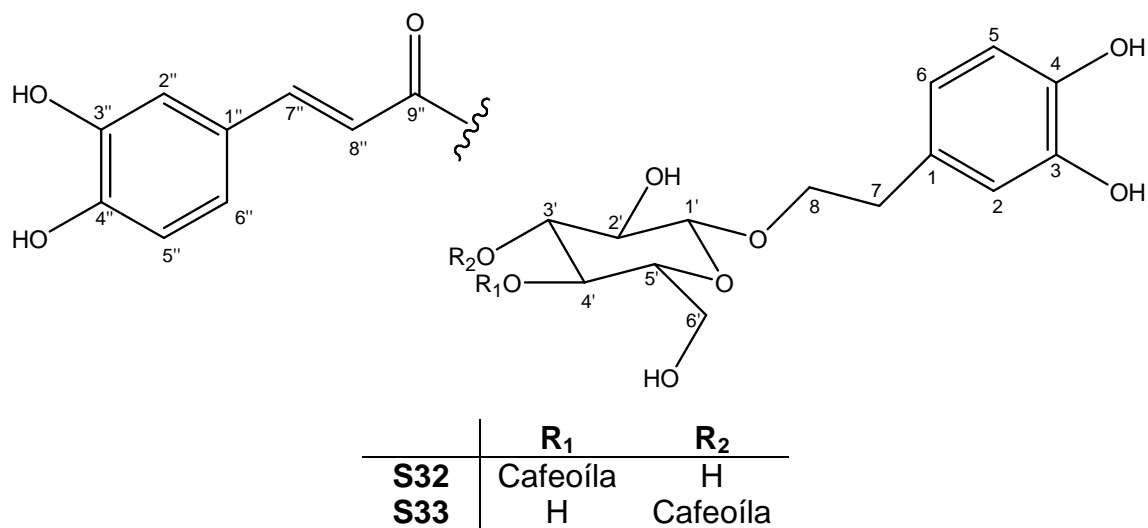


FIGURA 178. Espectro de RMN de ^1H de **S32** + **S33** (MeOD, 400 MHz).

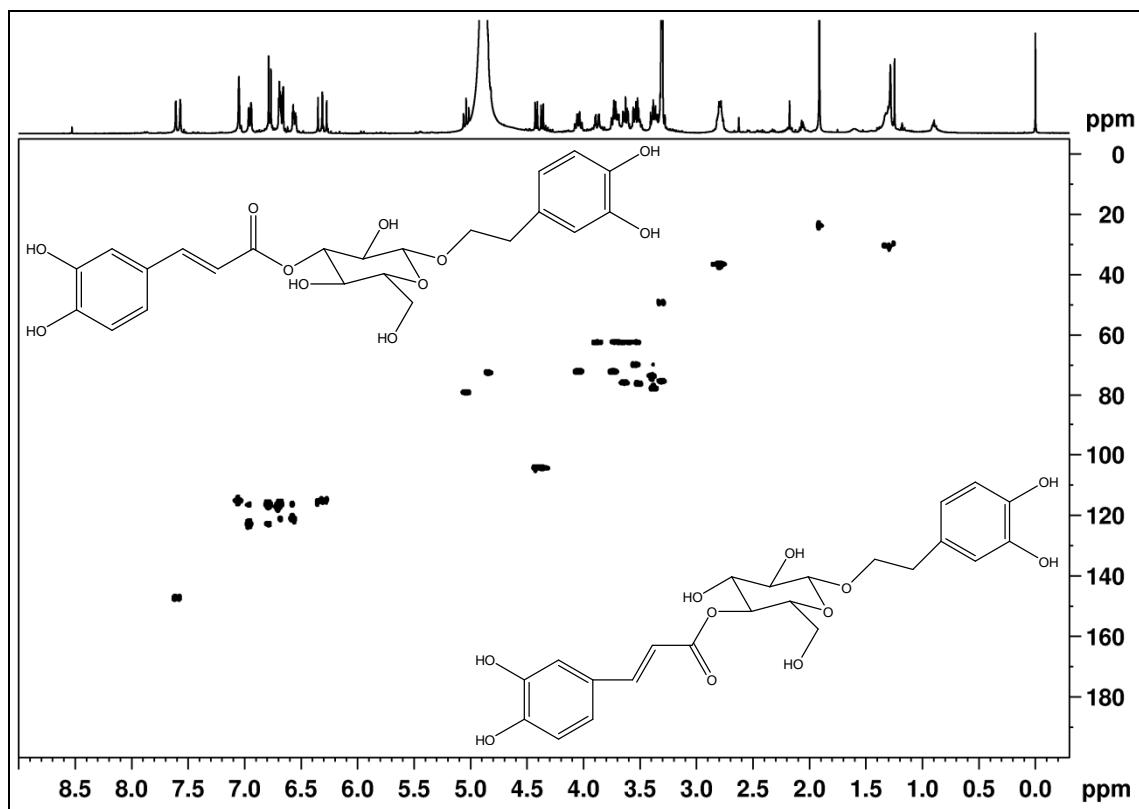


FIGURA 179. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S32** + **S33** (MeOD, 400 MHz).

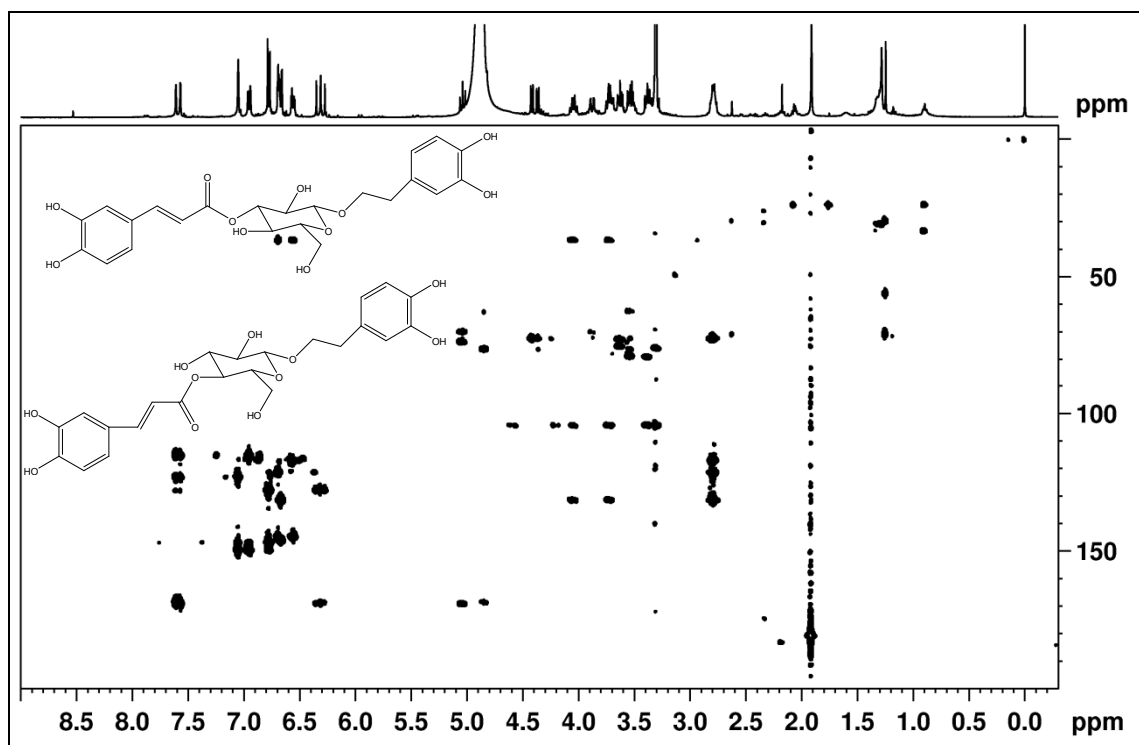


FIGURA 180. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S32** + **S33** (MeOD, 400 MHz).

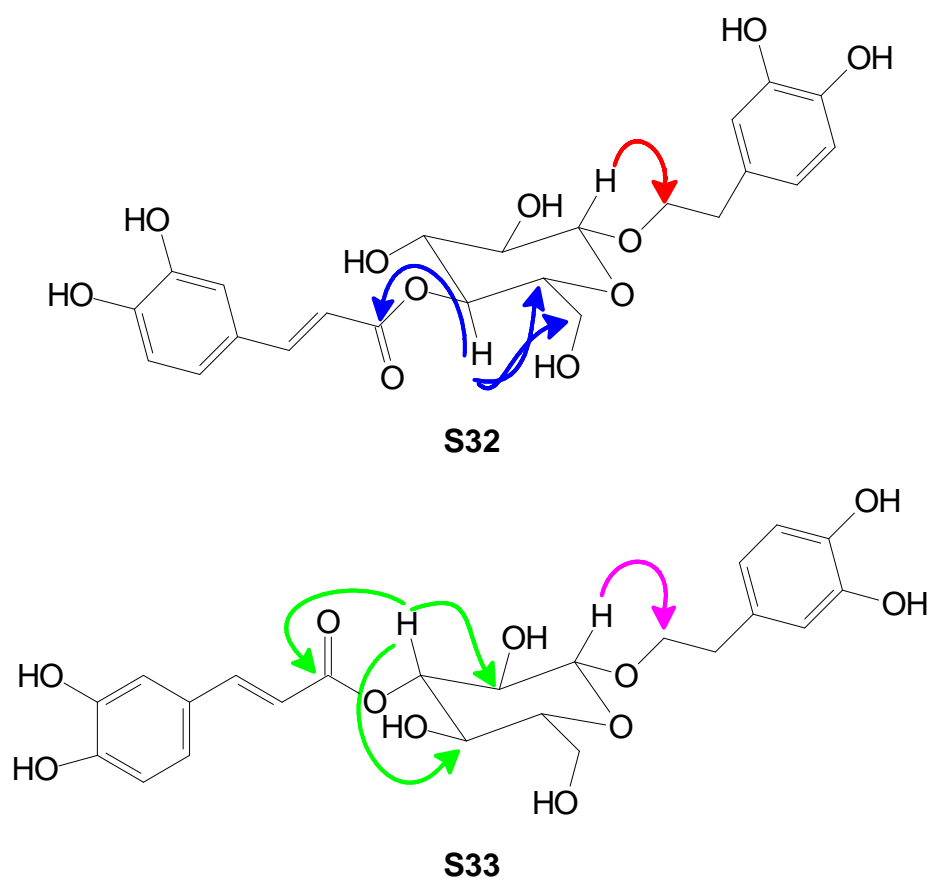
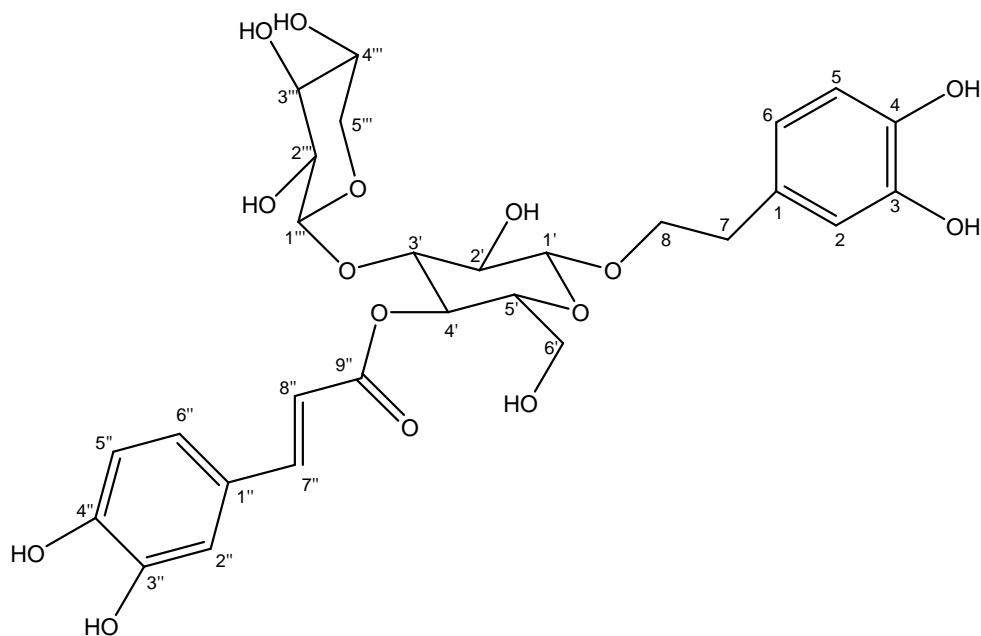
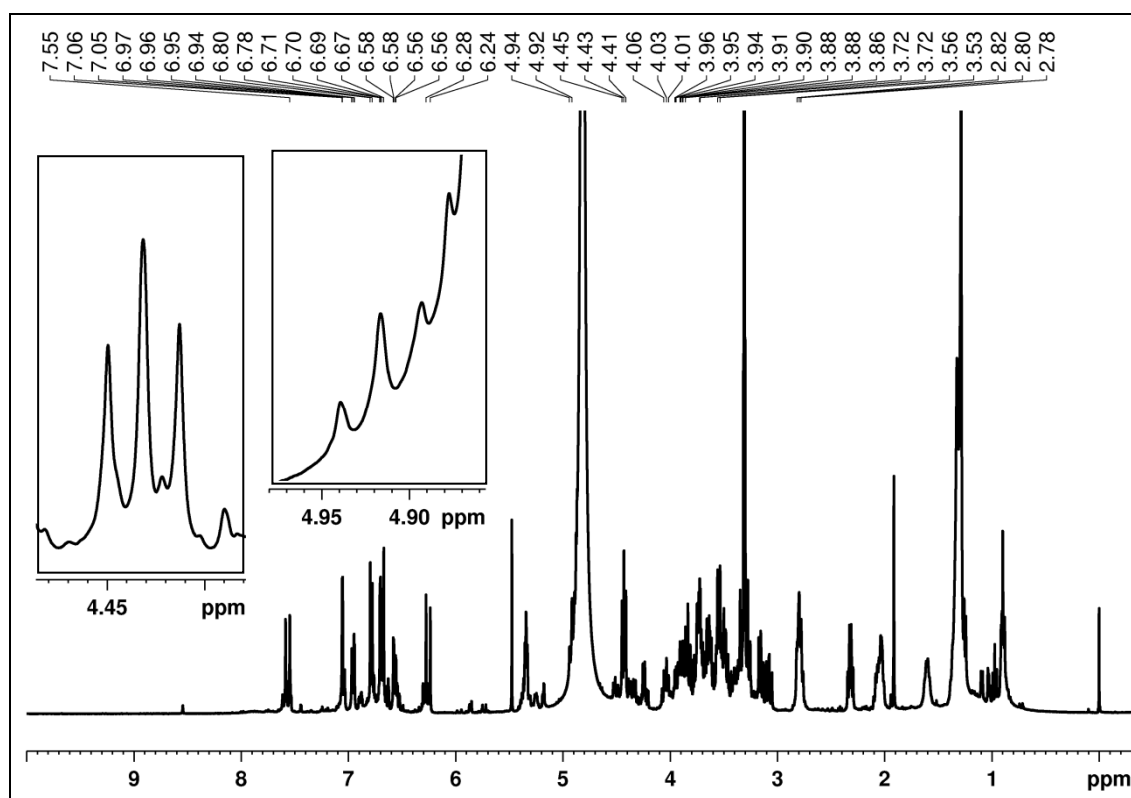


FIGURA 181. Principais correlações observadas nos mapas de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S32** e **S33**.

TABELA 37. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DAS SUBSTÂNCIAS **S31**, **S32** E **S33** (MeOD, 400 MHz).

Posição	S31			S32			S33		
	δ_{H} ; mult. (<i>J</i> em Hz)	δ_{C}	$^{\text{LD}}J_{\text{H,C}}$	δ_{H} ; mult. (<i>J</i> em Hz)	δ_{C}	$^{\text{LD}}J_{\text{H,C}}$	δ_{H} ; mult. (<i>J</i> em Hz)	δ_{C}	$^{\text{LD}}J_{\text{H,C}}$
1	-	131,9	-	-	131,4	-	-	131,4	-
2	6,68 <i>d</i> (1,9)	117,6	3, 4, 6, 7	6,70 <i>d</i> (2,0)	117,0	4, 6, 7	6,69 <i>d</i> (2,0)	117,0	4, 6, 7
3	-	146,5	-	-	146,0	-	-	146,0	-
4	-	145,1	-	-	144,8	-	-	144,8	-
5	6,64 <i>d</i> (8,0)	117,0	1, 3, 4	6,67 <i>d</i> (8,0)	116,2	1, 3	6,67 <i>d</i> (8,0)	116,2	1, 3
6	6,55 <i>dd</i> (8,0:1,9)	121,8	2, 4, 7	6,56 <i>dd</i> (8,0:2,0)	121,1	2, 4, 7	6,56 <i>dd</i> (8,0:2,0)	121,1	2, 4, 7
7	2,78 <i>t</i> (7,6)	37,1	1, 2, 6, 8	2,79 <i>t</i> (7,8)	36,4	1, 2, 6, 8	2,78 <i>t</i> (7,6)	36,4	1, 2, 6, 8
8	3,70 e 3,96, <i>m</i>	72,8	1, 1', 7	3,72 e 4,05, <i>m</i>	72,0	1, 1', 7	3,72 e 4,05 <i>m</i>	72,0	b, 1, 1'
1'	4,33 <i>d</i> (7,6)	105,0	2', 3', 8	4,37 <i>d</i> (7,8)	104,3	8	4,42 <i>d</i> (7,9)	104,2	8
2'	3,23 <i>m</i>	75,5	1', 3', 8	3,30 <i>m</i>	75,1	1', 3'	3,39 <i>m</i>	73,4	1', 3'
3'	3,40 <i>m</i>	78,3	2', 4'	3,64 <i>m</i>	75,6	2', 4'	5,04 <i>d</i> (9,4)	78,9	2', 4', 9''
4'	3,39 <i>m</i>	72,2	2', 3', 6'	4,82 <i>d</i> (9,3)	72,4	5', 6', 9''	3,53 <i>m</i>	69,8	3', 5', 6'
5'	3,52 <i>m</i>	75,9	1', 3', 4'	3,51 <i>m</i>	76,0	4'	3,37 <i>m</i>	77,5	4'
6'a	4,37 <i>dd</i> (12,0:5,9)	65,1	4', 5', 9''	3,5-3,7 <i>m</i>	62,3	N.O.	3,73 <i>m</i>	62,3	N.O.
6'b	4,54 <i>dd</i> (12,0:1,8)		4', 5', 9''				3,88 <i>dd</i> (12,1:2,4)		4'
1''	-	128,1	-	-	127,7	-	-	127,7	-
2''	7,04 <i>d</i> (1,9)	115,5	3'', 4'', 6'', 7''	7,05 <i>d</i> (1,8)	115,0	4'', 6'', 7''	7,05 <i>d</i> (1,8)	115,0	4'', 6'', 7''
3''	-	147,2	-	-	146,8	-	-	146,8	-
4''	-	150,0	-	-	149,6	-	-	148,2	-
5''	6,77 <i>d</i> (8,2)	116,8	1'', 3'', 4''	6,78 <i>d</i> (8,2)	116,4	1'', 3''	6,78 <i>d</i> (8,2)	116,4	1'', 3''
6''	6,87 <i>dd</i> (8,2:1,9)	123,6	2'', 4'', 7''	6,96 <i>dd</i> (8,2:1,8)	122,9	2'', 4'', 7''	6,96 <i>dd</i> (8,2:1,8)	122,9	2'', 4'', 7''
7''	7,56 <i>d</i> (15,9)	147,7	1'', 2'', 6'', 9''	7,59 <i>d</i> (15,8)	147,1	2'', 6'', 9''	7,59 <i>d</i> (15,8)	147,1	2'', 6'', 9''
8''	6,28 <i>d</i> (15,9)	115,3	1'', 9''	6,29 <i>d</i> (15,8)	114,6	1'', 9''	6,33 <i>d</i> (15,8)	115,4	1'', 9''
9''	-	169,7	-	-	168,7	-	-	169,0	-

A substância **S34** foi isolada em uma mistura, da qual era o componente majoritário. Seu espectro de RMN de ^1H (Figura 182; página 223) apresentou os sinais correspondentes aos hidrogênios aromáticos de glicosídeos fenólicos (δ 7,57 a 6,26), mas a região dos hidrogênios carbinólicos era muito mais complexa do que nas substâncias anteriores. Nessa região pode-se observar a presença de dois dupletos em δ 4,42 ($J=7,4$ Hz, H-1') e 4,44 ($J=7,2$ Hz, H-1''), além de um hidrogênio mais desprotegido em δ 4,93 (d , $J=9,1$ Hz, H-4'). No espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (Figura 183; página 224) pode-se observar a presença de uma carbonila de éster em δ 168,6 (C-9'). Pelos mapas de correlação ^1H - ^{13}C direta (Figura 184; página 224) e a longa distância (Figura 185; página 225) pode-se visualizar que o hidrogênio em δ 4,93 (H-4') está ligado ao carbono em δ 71,1 e faz correlação com os carbonos em δ 62,5 (C-6'), 75,9 (C-2'), 85,4 (C-3') e 168,6; o hidrogênio em δ 3,83 (H-3') está ligado ao carbono em δ 85,4 e faz correlação com os carbonos em δ 71,1 (C-4') e 107,0 (C-1''); e o hidrogênio em δ 4,44 (H-1'') está ligado ao carbono em δ 107,0 e faz correlação com o carbono em δ 85,4 (C-3'). Ainda pode ser extraído dos mapas de correlações que os hidrogênios em δ 3,08 e 3,64 (H-5'') estão ligados ao mesmo carbono em δ 67,4 e o segundo faz correlação com os carbonos em δ 71,1 (C-4''), 77,7 (C-4'') e 107,0 (C-1''), além do hidrogênio anomérico em δ 4,42 (C-1') fazer correlação com o carbono em δ 72,3 (C-8) (Tabela 38; página 229; Figura 186; página 225). Com uma análise mais detalhada das correlações, e comparação com dados da literatura, **S34** foi identificada como sendo o conandrosídeo (JENSEN, 1996).

**S34**FIGURA 182. Espectro de RMN de ^1H de **S34** com ampliações (MeOD, 400 MHz).

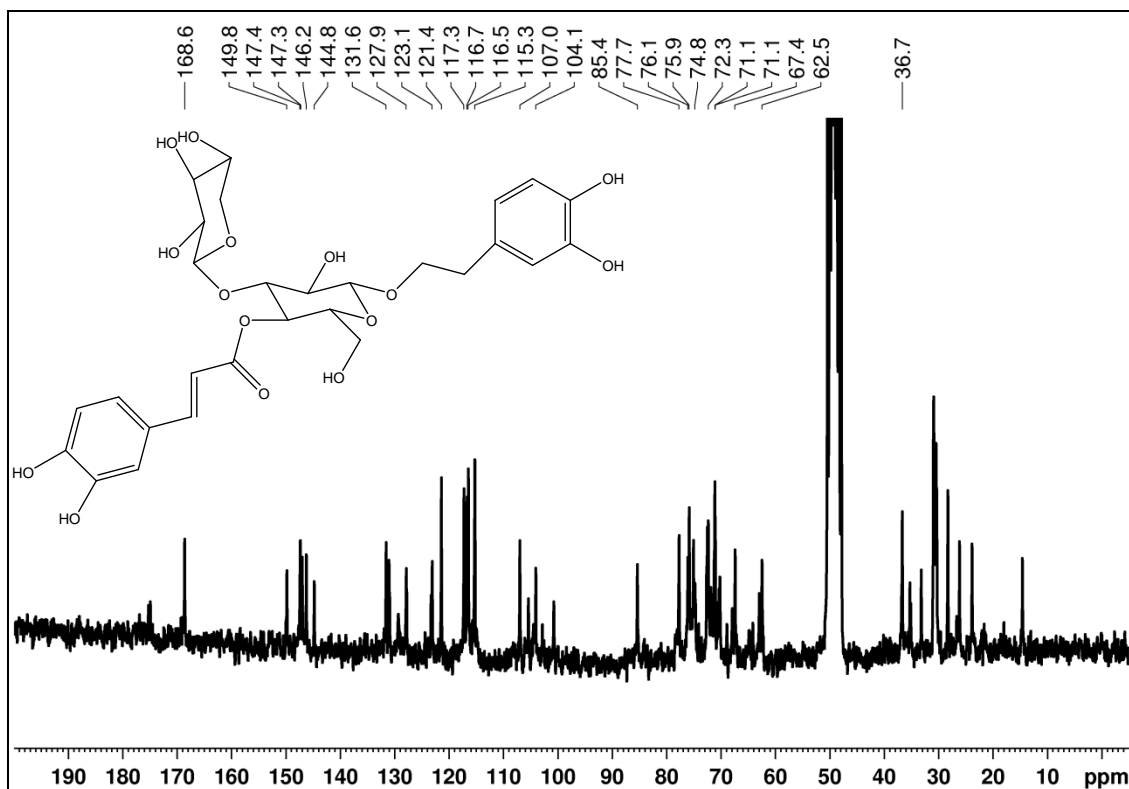


FIGURA 183. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de **S34** (MeOD, 50 MHz).

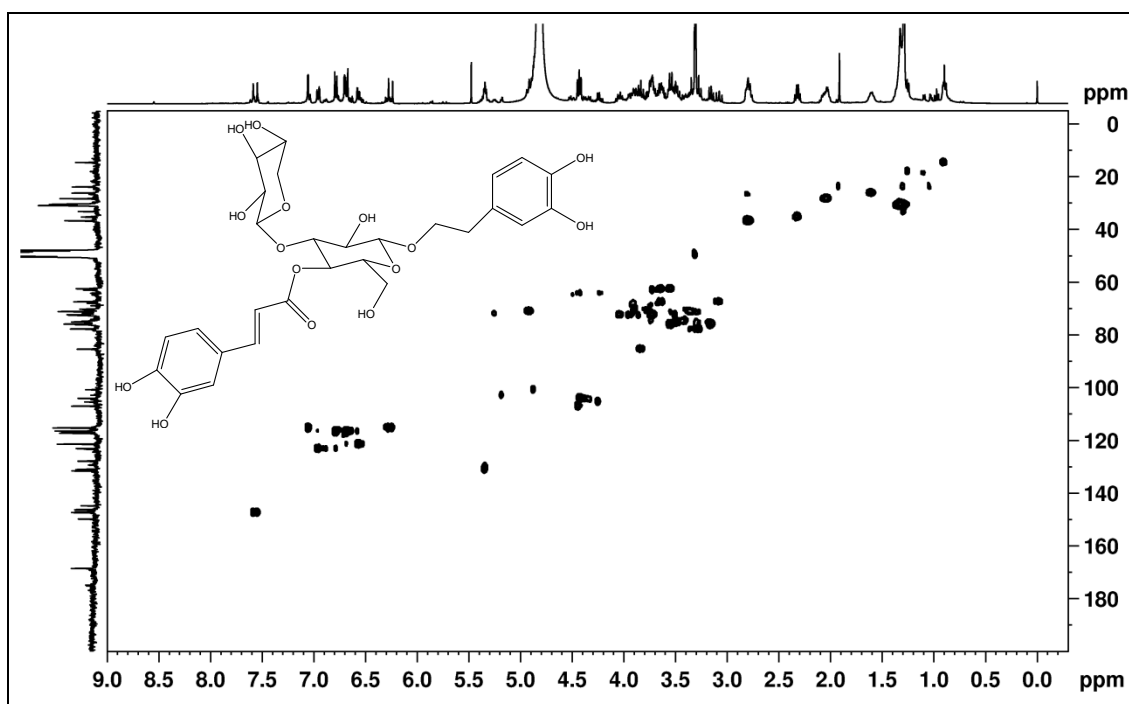


FIGURA 184. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S34** (MeOD, 400 MHz).

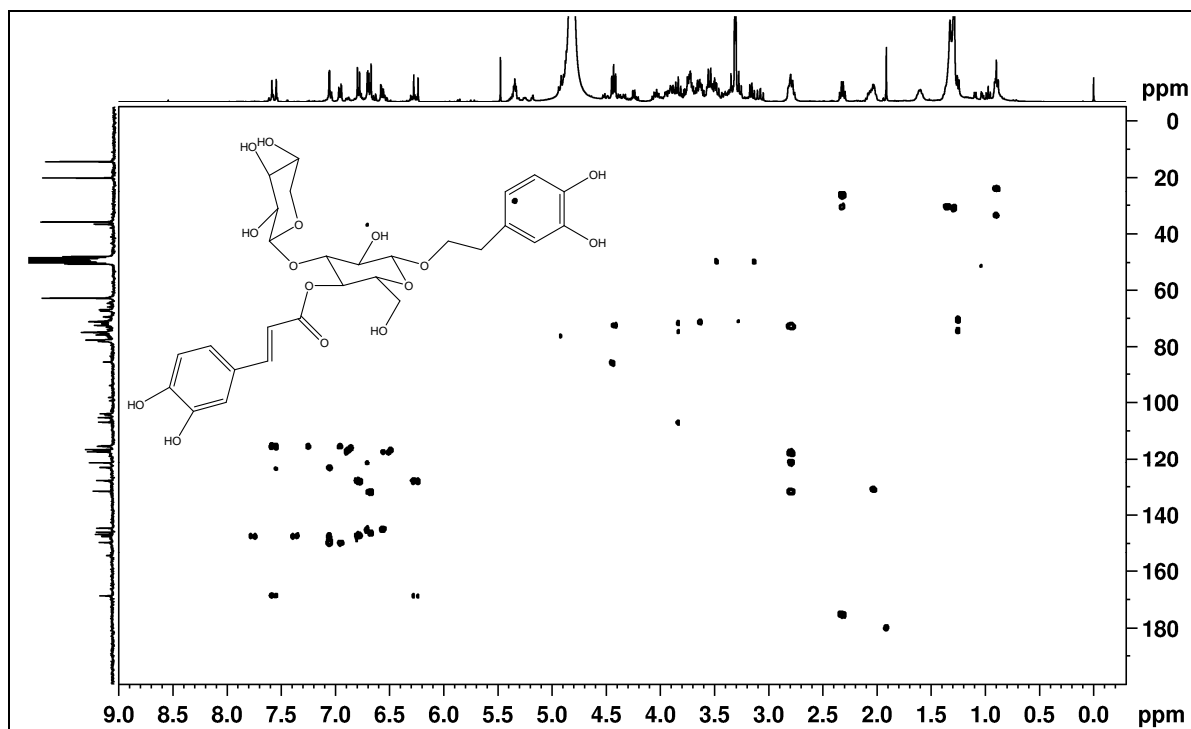


FIGURA 185. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S34** (MeOD, 400 MHz).

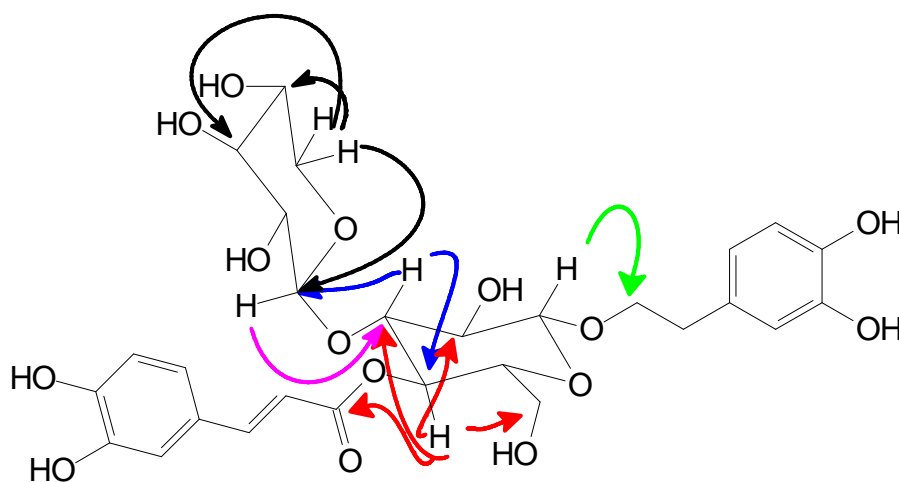
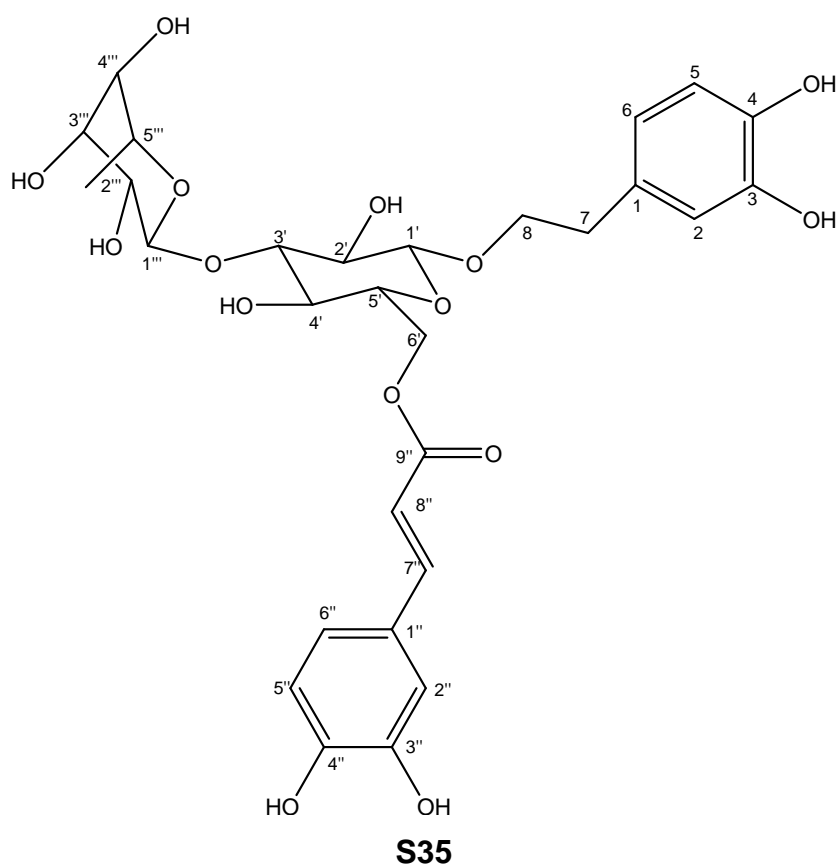


FIGURA 186. Principais correlações observadas nos mapas de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S34**.

A substância **S35** foi isolada em mistura, como o componente majoritário, sendo **S34** o componente minoritário. Os dados de **S35** puderam ser obtidos pela comparação com aqueles de **S34**. O espectro de RMN de ^1H (Figura 187; página 227) apresenta além dos hidrogênios na região de aromáticos, um sinal em δ 5,18 (H-1''') como um simpleto, um hidrogênio em δ 4,32 (*d*, $J=7,7$ Hz, H-1'), três hidrogênios em δ 1,25 (*d*, $J=6,1$ Hz, H-6'''), entre outros. Pelos mapas de correlação

^1H - ^{13}C direta (Figura 188; página 227) e a longa distância (Figura 189; página 227) pode-se observar que o hidrogênio em δ 4,32 (H-1') está ligado ao carbono em δ 104,4 e faz correlação com o carbono em δ 72,3 (C-8), o hidrogênio em δ 5,18 (H-1'') está ligado ao carbono em δ 102,7 e faz correlação com os carbonos em δ 70,1 (C-5'''), 71,9 (C-3''') e 83,9 (C-3'), e o hidrogênio em δ 3,55 (H-5') está ligado ao carbono em δ 75,8 e faz correlação com os carbonos em δ 70,8 (C-4') e 104,4 (C-1'). Além disso, pode-se observar que os hidrogênios em δ 4,35 e 4,49 (H-6') estão ligados ao carbono em δ 64,7 e fazem correlação com os carbonos em δ 70,8 (C-4') e 168,5 (C-9''), e os hidrogênios em δ 1,25 (H-6'') estão ligados ao carbono em δ 17,9 e fazem correlação com os carbonos em δ 70,1 (C-5''') e 74,1 (C-4''') (Tabela 38; página 229; Figura 190; página 228). Após um estudo dessas correlações e das estruturas isoladas previamente, **S35** pode ser identificada como isoverbascosídeo (JENSEN, 1996).



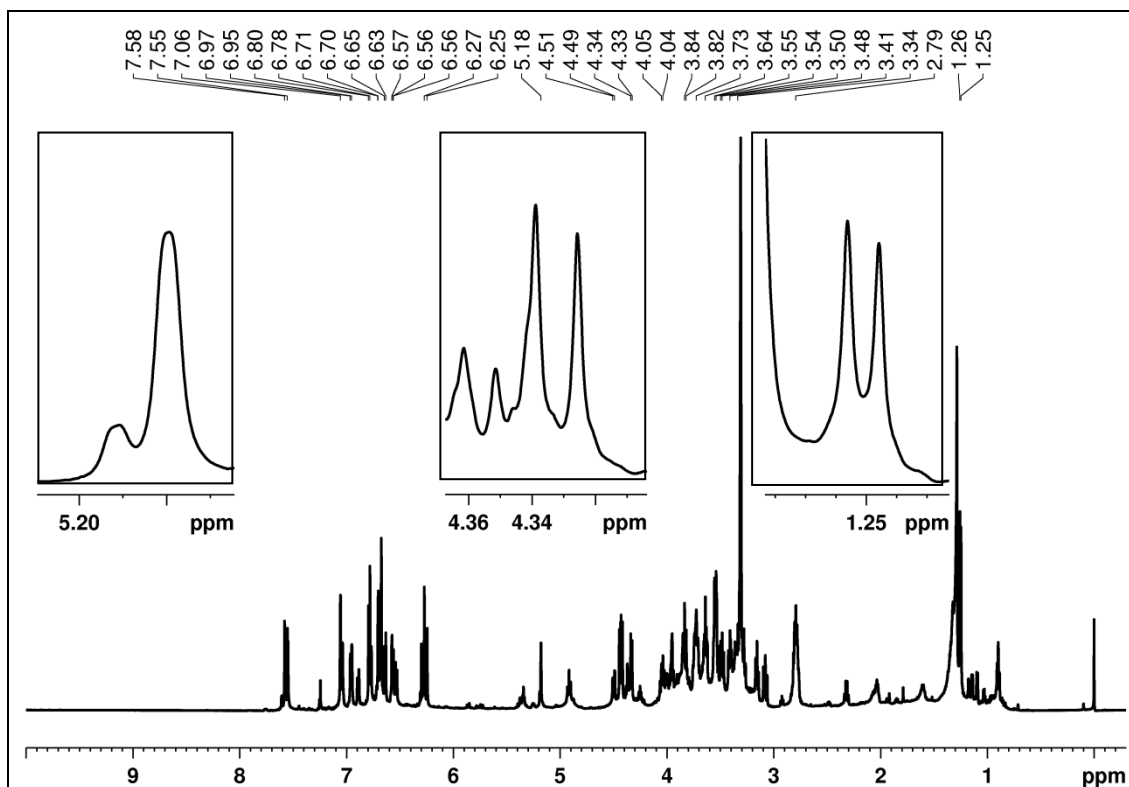


FIGURA 187. Espectro de RMN de ^1H de **S34 + S35** com ampliações (MeOD, 400 MHz).

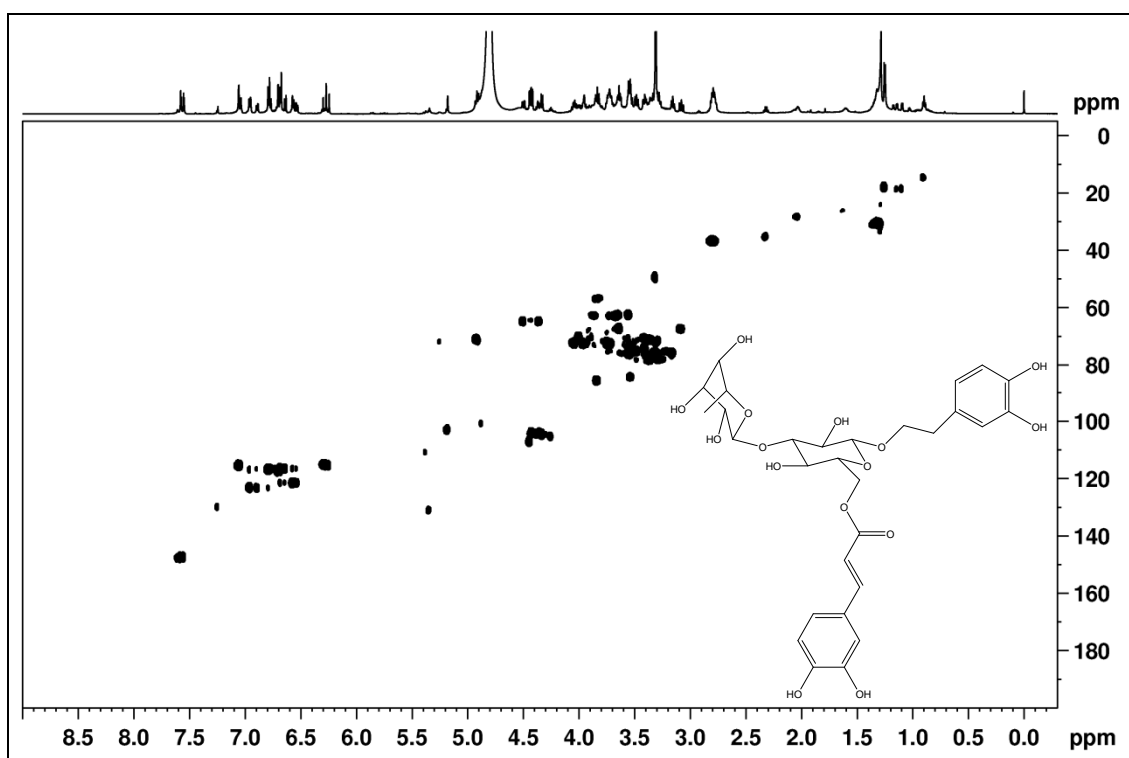


FIGURA 188. Mapa de correlação direta ^1H - ^{13}C de **S34 + S35** (MeOD, 400 MHz).

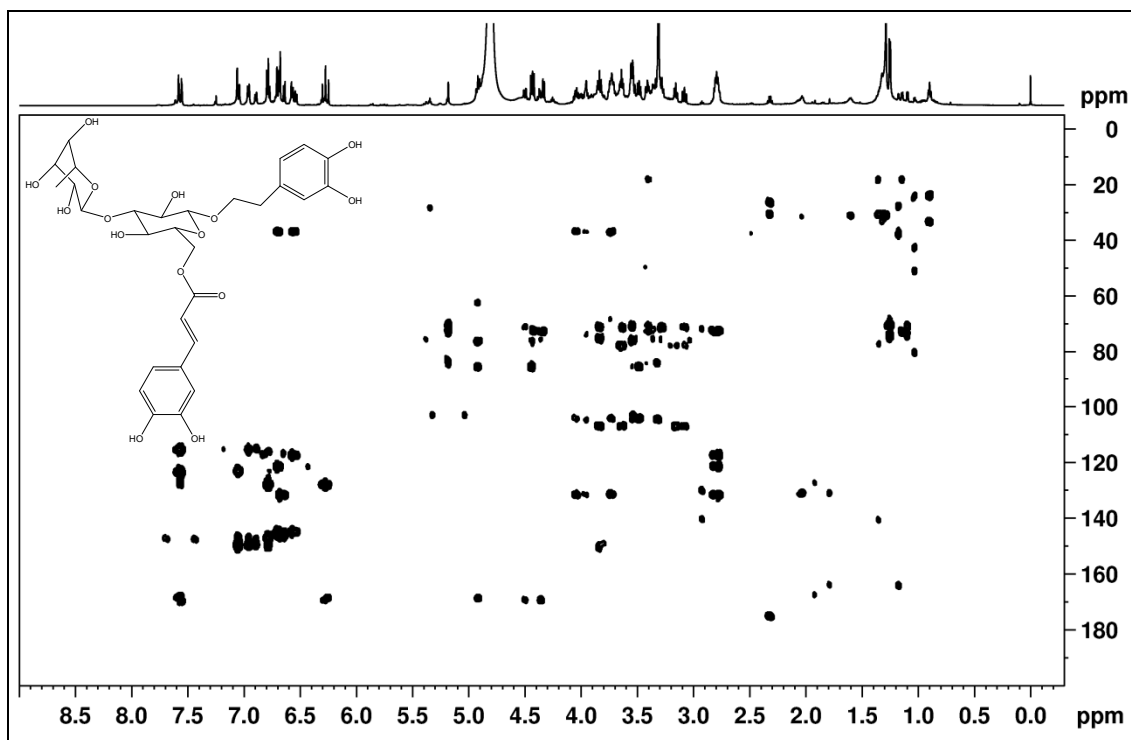


FIGURA 189. Mapa de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S34** + **S35** (MeOD, 400 MHz).

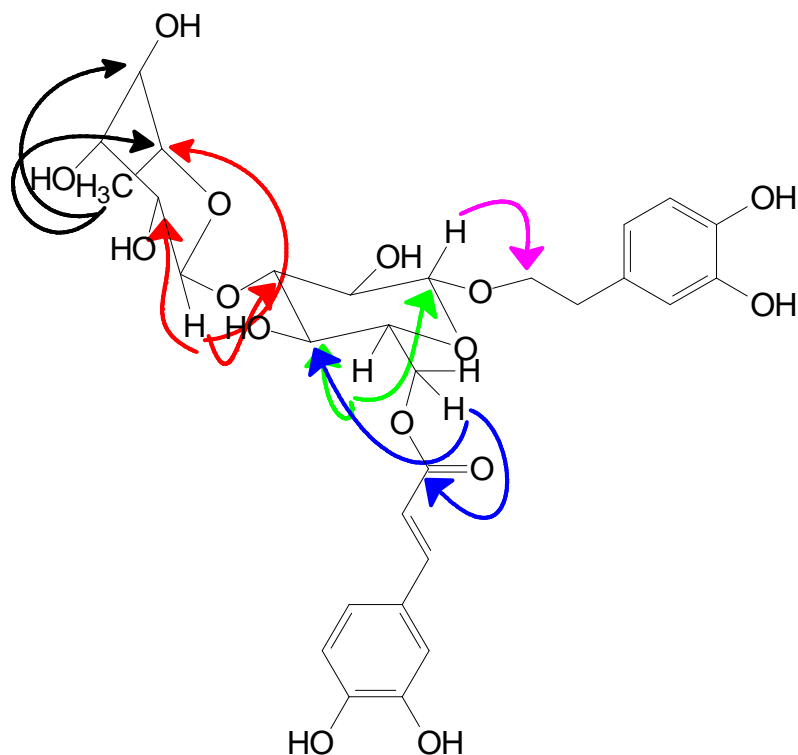


FIGURA 190. Principais correlações observadas nos mapas de correlação ^1H - ^{13}C a longa distância de **S35**.

TABELA 38. DADOS DE RMN DE ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ E HMBC DE **S34** E **S35** (MeOD, 400 MHz).

Pos	S34			S35		
	δ_{H} ; mult. (J em Hz)	δ_{C}	$^{\text{LD}}J_{\text{H,C}}$	δ_{H} ; mult. (J em Hz)	δ_{C}	$^{\text{LD}}J_{\text{H,C}}$
1	-	131,6	-	-	131,5	-
2	6,70 <i>d</i> (2,0)	117,3	1,4,6,7	6,70 <i>d</i> (1,7)	117,2	4,6,7
3	-	146,2	-	-	145,8	-
4	-	144,8	-	-	144,8	-
5	6,68 <i>d</i> (8,0)	116,7	1,3	6,64 <i>d</i> (8,0)	116,4	1,3
6	6,57 <i>dd</i> (8,0:2,0)	121,4	2,4,7	6,54 <i>dd</i> (8,0:1,7)	121,3	2,4,7
7	2,79 <i>t</i> (7,5)	36,8	1,2,6,8	2,79 <i>t</i> (7,6)	36,8	1,2,6,8
8a	3,95 <i>m</i>	72,3	1, 1'	3,74 <i>m</i>	72,3	1,1'
8b	4,04 <i>m</i>			4,04 <i>m</i>		1,1',7
1'	4,42 <i>d</i> (7,4)	104,1	8	4,32 <i>d</i> (7,7)	104,4	8
2'	3,48 <i>m</i>	75,9	1',3'	3,32 <i>m</i>	75,5	3'
3'	3,83 <i>m</i>	85,4	4',1'''	3,53 <i>m</i>	83,9	1',4',5'
4'	4,93 <i>d</i> (9,1)	71,1	2',3',6',9''	3,36 <i>m</i>	70,8	2'
5'	3,53 <i>m</i>	76,1	1',4'	3,55 <i>m</i>	75,8	1',4'
6'	3,56 <i>m</i>	62,5	1',4'	4,35 <i>m</i>	64,7	4',9''
	3,71 <i>m</i>			4,49 <i>m</i>		
1''	-	127,9	-	-	127,7	-
2''	7,06 <i>d</i> (2,0)	115,1	4'',6'',7''	7,04 <i>d</i> (1,7)	115,2	4'',6'',7''
3''	-	147,4	-	-	146,9	-
4''	-	149,8	-	-	149,5	-
5''	6,79 <i>d</i> (8,1)	116,5	1'',3'',4''	6,77 <i>d</i> (8,1)	117,2	1'',3'',4''
6''	6,96 <i>dd</i> (8,1:2,0)	123,1	2'',4'',7''	6,90 <i>dd</i> (8,1:1,7)	123,2	2'',4''
7''	7,57 <i>d</i> (15,9)	147,3	2'',6'',9''	7,56 <i>d</i> (15,8)	147,2	2'',6'',9''
8''	6,26 <i>d</i> (15,9)	115,3	1'',9''	6,29 <i>d</i> (15,8)	114,9	1'',9''
9''	-	168,6	-	-	168,5	-
1'''	4,44 <i>d</i> (7,2)	107,0	3'	5,18 <i>s</i>	102,7	3',2''',3''',5'''
2'''	3,73 <i>m</i>	74,8	N.O.	3,29 <i>m</i>	71,9	N.O.
3'''	3,28 <i>m</i>	77,7	N.O.	3,29 <i>m</i>	71,9	N.O.
4'''	3,88 <i>m</i>	71,1	1''',2'''	3,41 <i>m</i>	74,1	2''',6'''
5'''	3,08 e 3,64 <i>m</i>	67,4	1''',3''',4'''	4,00 <i>m</i>	70,1	4'''
6'''	-	-	-	1,25 <i>d</i> (6,1)	17,9	4''',5'''

N.O. – Não observado.

O espectro de massas dessa mistura (**S34** + **S35**) foi obtido no modo negativo ($[\text{M-H}]^-$) (Figura 191; página 230) e revelou dois picos com m/z 609,19 e 623,19, correspondendo às fórmulas moleculares $\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_{15}$ e $\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{O}_{15}$, que são esperadas

para **S34** e **S35**, respectivamente. O pico de **S34** foi fragmentado, resultando em m/z 447,17 ($[M-C_9H_6O_3]^-$) que é a perda do grupo cafeoíla. Este fragmento foi posteriormente fragmentado resultando em m/z 315,00 ($[M-C_5H_8O_4]^-$), saída da unidade de xilose e esse último resultou em m/z 134,92 ($[M-C_6H_{12}O_6]^-$), que é a perda da unidade de glicose (Figuras 192-194; páginas 230-231) (KEEFOVER-RING *et al.*, 2014). A fragmentação do pico do íon molecular de **S35** (Figuras 195-197; páginas 231-232) resultou nas mesmas quebras de **S34**, com a diferença de massa da unidade de rhamnose em lugar da xilose. A estrutura com seus fragmentos propostos estão apresentados a seguir (Figura 198; página 232), usando como base os dados de massas obtidos e o estudo de Li e colaboradores (2005) (LI *et al.*, 2005).

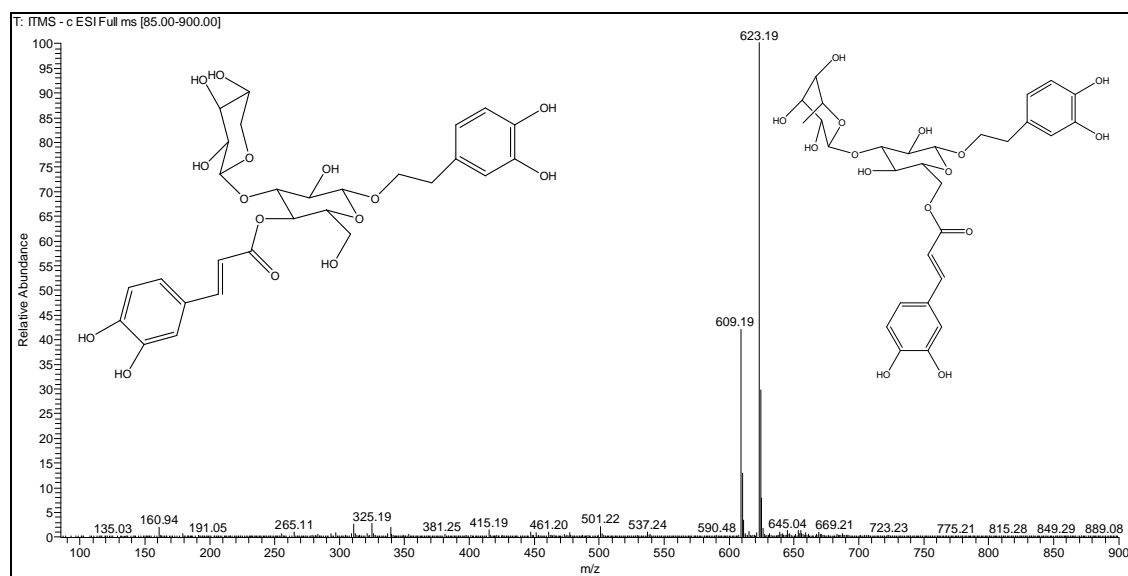


FIGURA 191. Espectro de massas no modo negativo ($[M-H]^-$) de **S34** + **S35**.

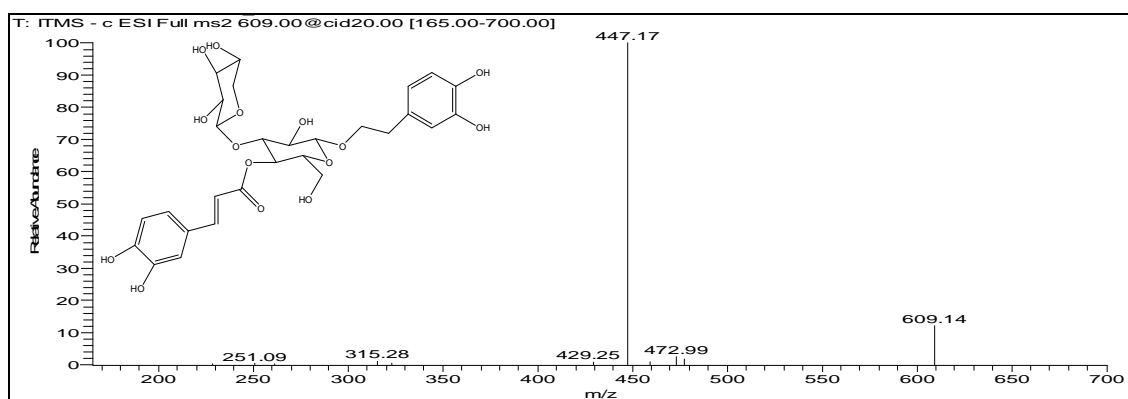


FIGURA 192. Espectro de massas da fragmentação do íon molecular de **S34** (MS^2).

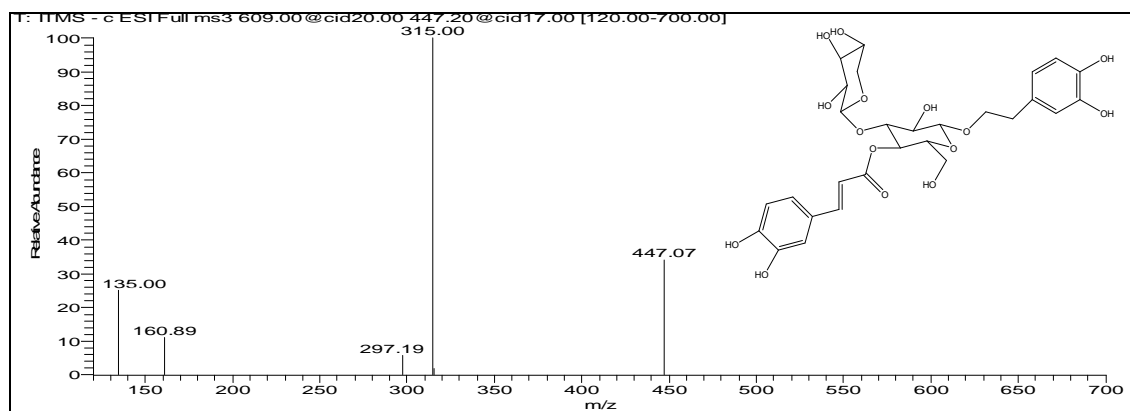


FIGURA 193. Espectro de massas da fragmentação do íon m/z 447,07 ($[M-C_9H_6O_3]^+$) de **S34** (MS^3).

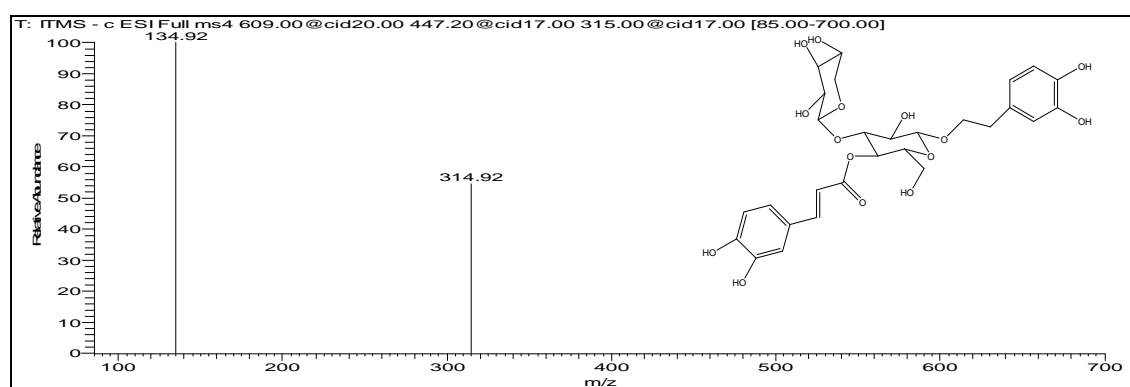


FIGURA 194. Espectro de massas da fragmentação do íon m/z 314,92 ($[M-C_5H_8O_4]^+$) de **S34** (MS^4).

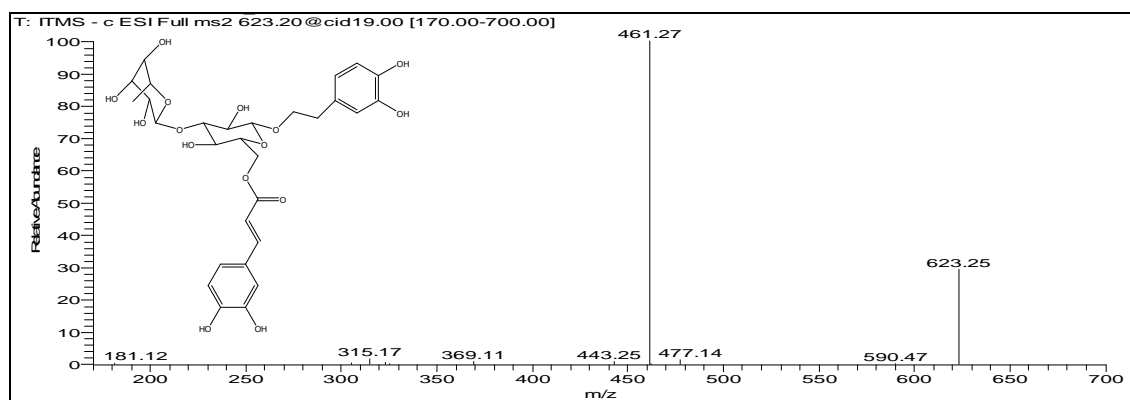


FIGURA 195. Espectro de massas da fragmentação do íon molecular de **S35** (MS^2).

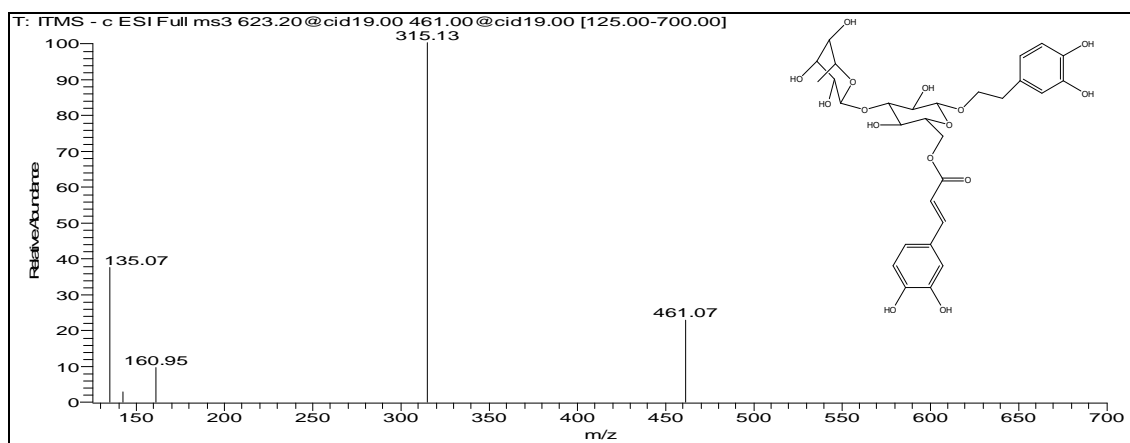


FIGURA 196. Espectro de massas da fragmentação do íon m/z 461,07 ($[M-C_9H_6O_3]^-$) de **S35** (MS^3).

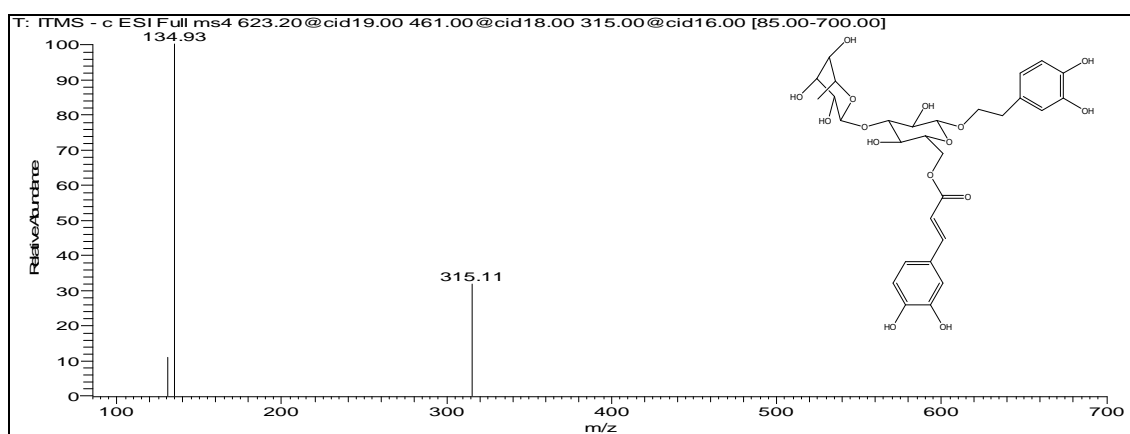


FIGURA 197. Espectro de massas da fragmentação do íon m/z 315,11 ($[M-C_6H_{10}O_4]^-$) de **S35** (MS^4).

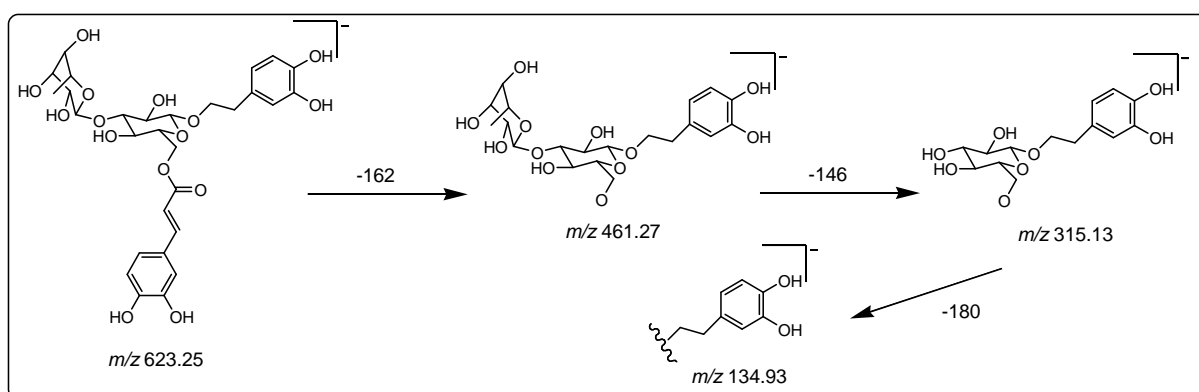


FIGURA 198. Fragmentação de massas proposta para **S35**.

4.9. DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DAS MISTURAS DE COMPONENTES VOLÁTEIS DE *S. canescens*.

4.9.1. SCA - Extrato em hexano dos tubérculos de *S. canescens*

O extrato em hexano de *Sinningia canescens* é oleoso, com aroma adocicado e apresentou um espectro de RMN de ^1H (Figura 199; página 234) típico de uma mistura de terpenóides, com muitos sinais na região de hidrogênios alifáticos, entre δ 0,7 a 2,0. Com a finalidade de identificar as substâncias desse extrato, sem o trabalho de isolamento, este foi submetido à análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. O cromatograma obtido (Figura 200; página 234) se mostrou pouco complexo, com dois compostos em grande quantidade. O de maior tempo de retenção foi identificado como cedrol (**S19**), enquanto o outro não constava na bibliografia consultada (ADAMS, 2007). Entretanto o seu tempo de retenção e o espectro de massas é idêntico ao do sesquiterpeno **S20**. Essa análise mostra que estes dois sesquiterpenos estão presentes em grande quantidade no extrato hexânico. Outros 20 componentes da mistura foram identificados, sendo 19 sesquiterpenos não oxigenados e um oxigenado (Tabela 39; página 235). Essa amostra não foi analisada por CG-DIC, mas a quantidade dos dois componentes majoritários foi obtida a partir da área dos picos detectados pelo espectrômetro de massas, resultando em 19,5 e 26,4 % de **S20** e **S19**, respectivamente.

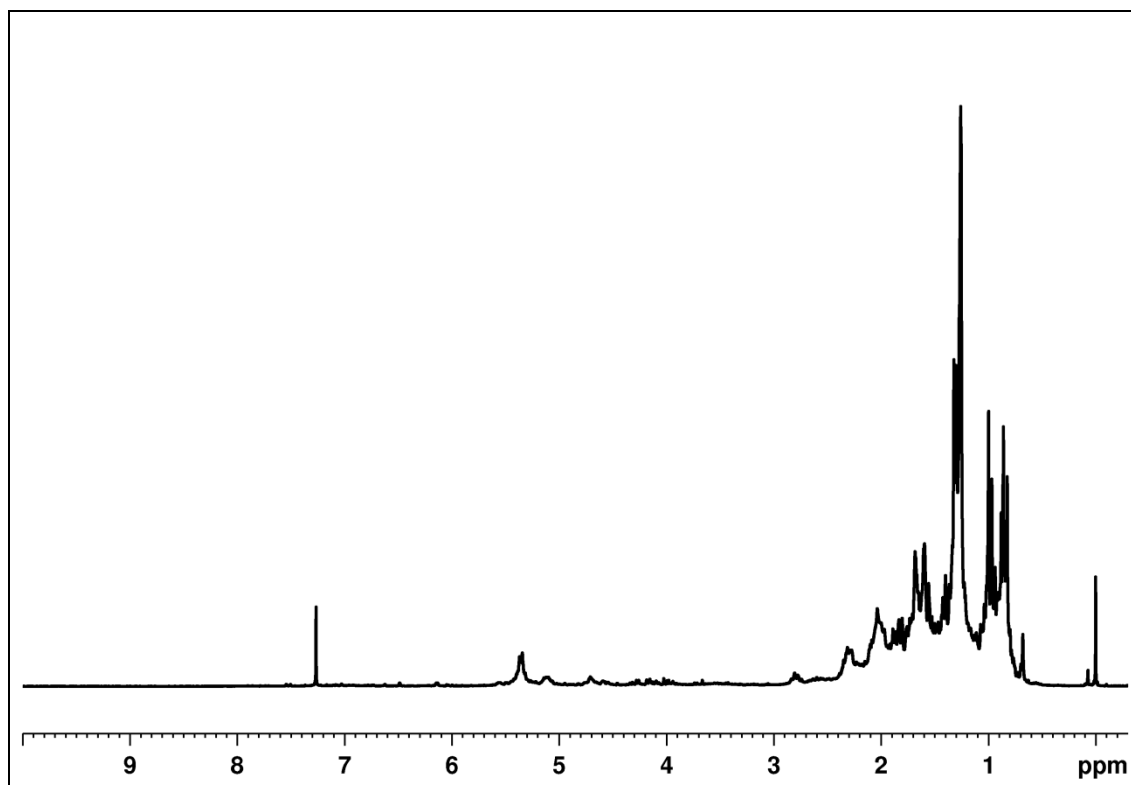


FIGURA 199. Espectro de RMN de ^1H do extrato em hexano de *S. canescens* (SCA) (CDCl_3 , 200 MHz).

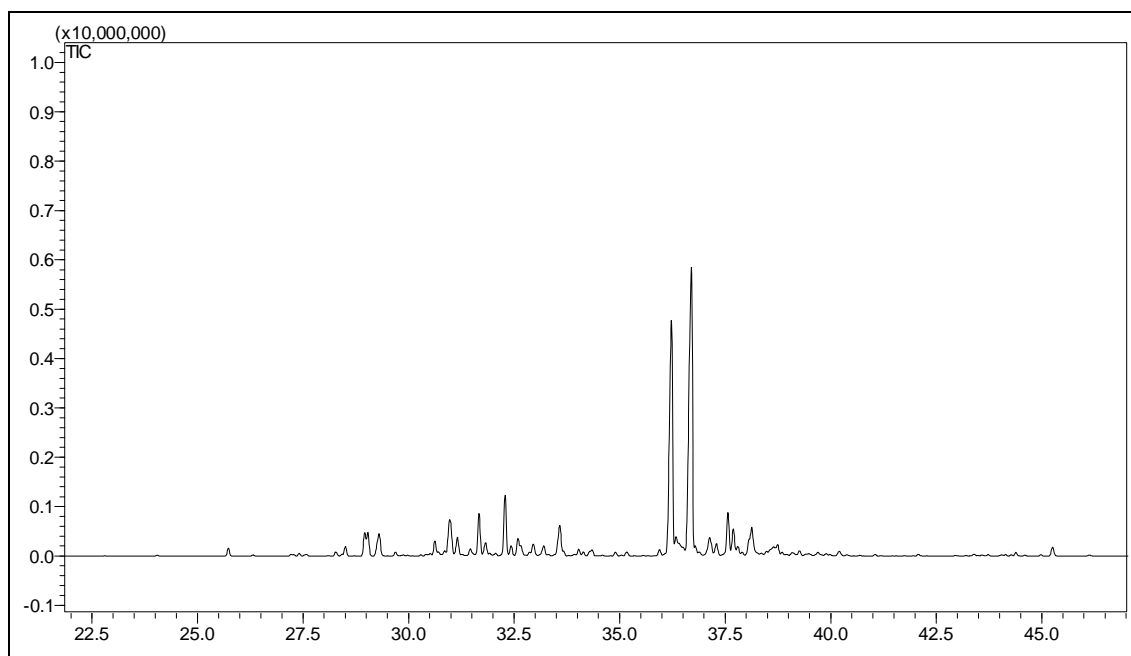


FIGURA 200. Cromatograma de **SCA** (antes de 22,5 min. e depois de 47,5 min. não há picos).

TABELA 39. COMPOSIÇÃO VOLÁTIL DO EXTRATO HEXÂNICO DE *S. canescens* (SCA).

Composto	IR ^{calc.}	IR ^{lit.}
δ -elemeno (S36)	1329	1335
α -ylangeno (S37)	1363	1373
α -copaeno (S38)	1368	1374
2- <i>epi</i> - α -funebreno (S39)	1371	1380
<i>iso</i> -italiceno (S40)	1392	1402
α -cedreno (S41)	1402	1411
2- <i>epi</i> - β -funebreno (S42)	1404	1411
β -cedreno (S43)	1411	1419
muurola-3,5-dieno (S44)	1442	1453
α -acoradieno (S45)	1457	1464
β -acoradieno (S46)	1464	1469
γ -gurjuneno (S47)	1468	1477
α -amorpheno (S48)	1472	1483
β -selineno (S49)	1483	1490
γ -amorpheno (S50)	1486	1495
valenceno (S51)	1490	1496
α -muuroleno (S52)	1492	1500
<i>trans</i> - β -guaieno (S53)	1498	1502
δ -cadineno (S54)	1515	1522
2,6,7-tri- <i>epi</i> -cedrol (S20)	1582	N.C.
cedrol (S19)	1594	1600
<i>epi</i> - α -cadinol (S55)	1632	1638

N.C. - Não consta.

4.9.2. SCA-I - Primeira fração do extrato em hexano dos tubérculos de *S. canescens*.

O óleo incolor **SCA-I** obtido do extrato em hexano de *S. canescens* através de fracionamento cromatográfico apresentou uma única mancha quando analisado por CCDA em diversos sistemas de solvente. O seu espectro de RMN de ^1H (Figura 201; página 236) apresentou diversos multipletos na região de δ 0,7 a 1,10, caracterizando uma mistura de terpenóides, além de um sinal intenso em δ 1,25, típico dos grupos metilênicos de compostos alifáticos de cadeia longa. O espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ desse óleo (Figura 202; página 237) apresentou muitos sinais na região de δ 14,0 a 60,0, além de alguns referentes a carbonos carbinólicos e

olefínicos. Por essa razão, e também por ser fortemente aromático, o óleo foi analisado por CG-EM e CG-DIC. O cromatograma obtido (Figura 203; página 237) mostra que o óleo é uma mistura bastante complexa. A comparação dos espectros de massas e dos índices de retenção dos diversos picos com a literatura levou à identificação de 48 substâncias, correspondendo a 86,2% do total do óleo (Tabela 40; páginas 238-239; Figuras 204-206; páginas 239-241). Este contém predominantemente sesquiterpenos não oxigenados (82,6%), juntamente com uma pequena fração de sesquiterpenos oxigenados (2,0%) e compostos alifáticos (1,6%). Monoterpenos e fenilpropanoides não foram encontrados. Os componentes majoritários são α -cedreno e 2-*epi*- β -funebreno (18,3%), β -santaleno (14,6%), e *trans*-cadina-1(6)4-dieno (10,0%). Dos 22 compostos voláteis identificados no extrato hexânico, 17 foram encontrados neste óleo.

Vale ressaltar que a composição química determinada anteriormente para o óleo essencial de *S. aggregata* (STEFANELLO *et al.*, 2005) apresentou-se muito diferente deste, possuindo principalmente compostos alifáticos de cadeia longa e sesquiterpenos oxigenados, enquanto que o óleo das flores de *S. tubiflora* contém linalol como constituinte principal (PERRET *et al.*, 2003).

A obtenção deste óleo a partir do extrato etanólico de *S. canescens* foi inesperada, pois em geral os componentes mais voláteis de uma planta são perdidos quando se prepara extratos etanólicos.

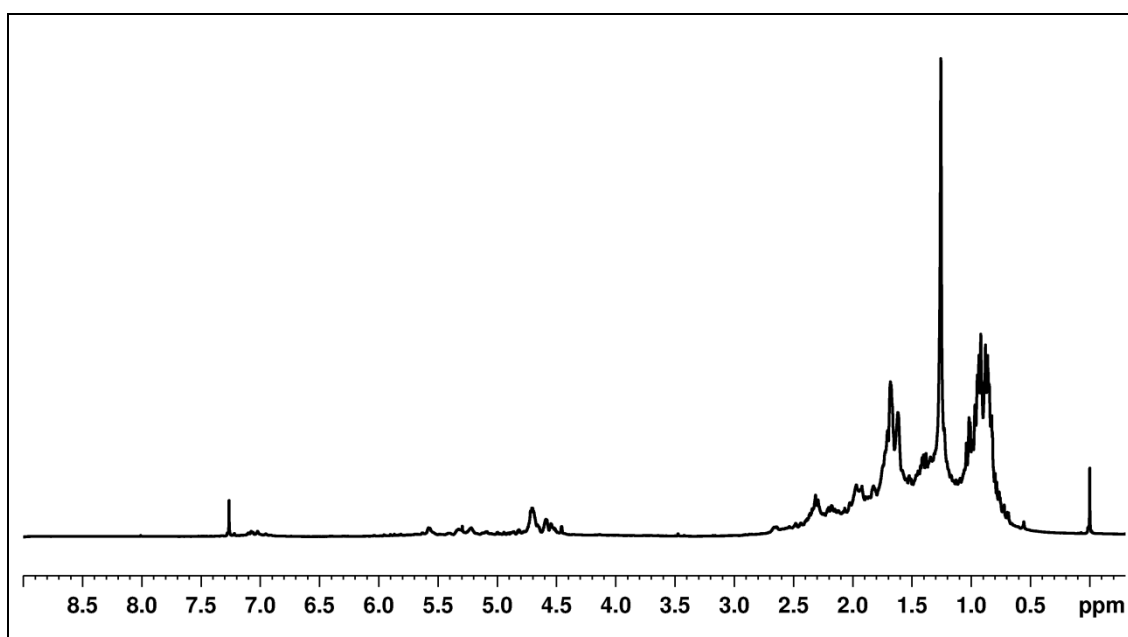


FIGURA 201. Espectro de RMN de ^1H de **SCA-I** (CDCl_3 , 200 MHz).

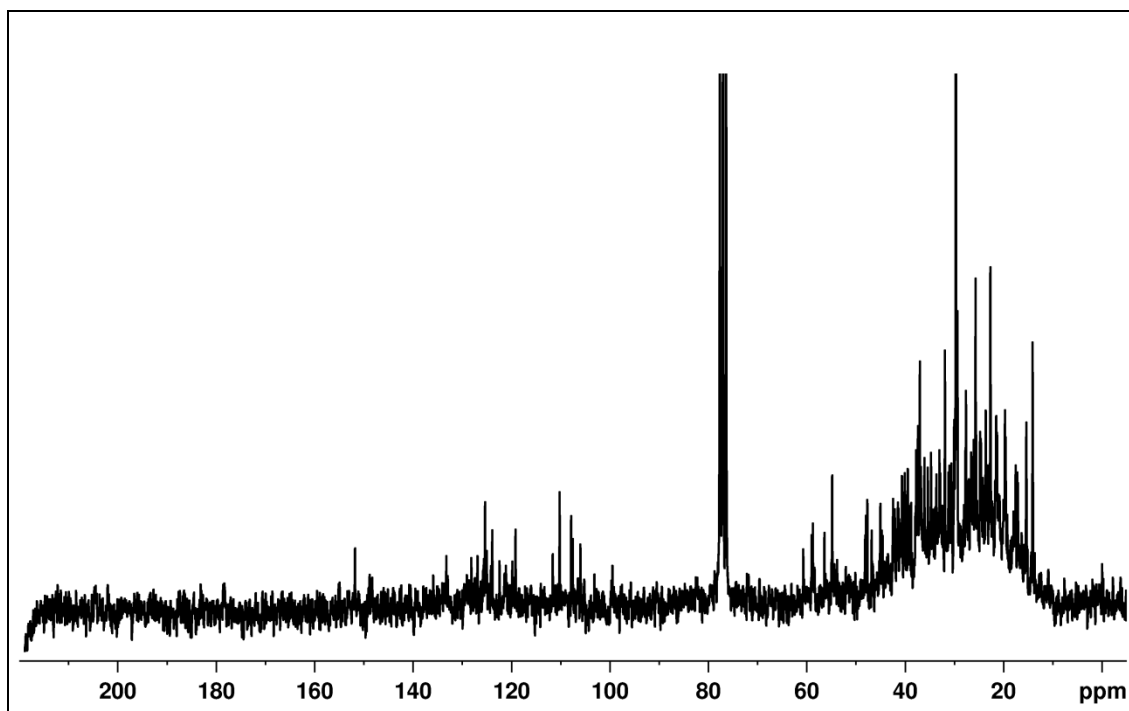


FIGURA 202. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de **SCA-I** (CDCl_3 , 50 MHz).

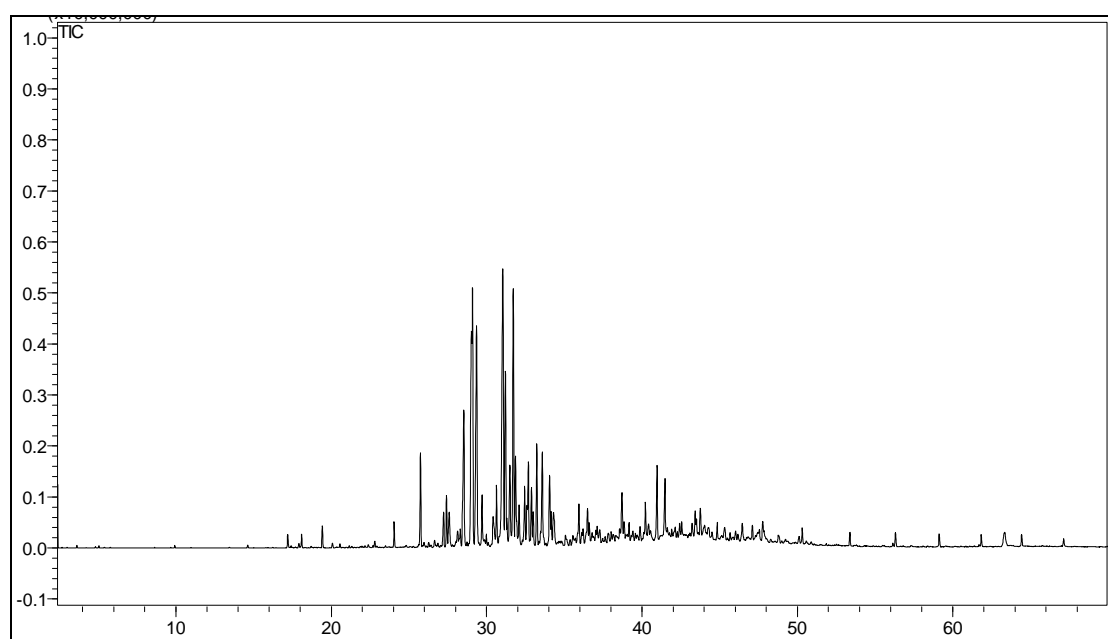


FIGURA 203. Cromatograma de **SCA-I**.

TABELA 40. COMPOSIÇÃO DO ÓLEO DA FRAÇÃO SCA-I DO EXTRATO HEXÂNICO DE *S. canescens*.

Composto	IR ^{calc.}	IR ^{lit.}	%
δ-elemeneno (S36)	1329	1335	2,7 ± 0,1
α-ylangeno (S37)	1363	1373	0,8 ± 0,0
α-copaeno (S38)	1367	1374	0,9 ± 0,0
2- <i>epi</i> -α-funebreno (S39)	1371	1380	1,1 ± 0,0
β-elemeneno (S56)	1383	1389	0,4 ± 0,1
α-funebreno (S57)	1393	1402	3,7 ± 0,0
sesquithujeno (S58)	1397	1405	0,7 ± 0,0
α-cedreno (S41)	1404	1410	18,3 ± 0,0
2- <i>epi</i> -β-funebreno (S42)	1406	1411	
β-cedreno (S43)	1412	1419	10,4 ± 0,0
β-copaeno (S59)	1421	1430	1,2 ± 0,0
<i>trans</i> -α-bergamoteno (S60)	1427	1432	0,3 ± 0,1
α-guaieno (S61)	1430	1437	0,6 ± 0,0
prezizaeno (S62)	1438	1444	0,3 ± 0,0
amorpha-4,11-dieno (S63)	1443	1449	1,2 ± 0,0
β-santaleno (S64)	1453	1459	14,6 ± 0,1
α-acoradieno (S45)	1457	1464	2,9 ± 0,1
β-acoradieno (S46)	1464	1469	2,0 ± 0,1
<i>trans</i> -cadina-1(6)-4-dieno (S65)	1469	1475	10,0 ± 0,2
α-amorpheno (S48)	1472	1483	1,5 ± 0,1
β-selineno (S49)	1478	1489	0,7 ± 0,0
γ-amorpheno (S50)	1487	1495	0,5 ± 0,0
α-muuroleno (S52)	1492	1500	0,7 ± 0,0
cupareno (S66)	1497	1504	1,5 ± 0,0
β-bisaboleno (S67)	1500	1505	1,1 ± 0,0
γ-cadineno (S68)	1506	1513	2,2 ± 0,0
<i>trans</i> -calameneno (S69)	1515	1521	2,7 ± 0,0
α-cadineno (S54)	1529	1537	<0,1
óxido de cariofileno (S70)	1574	1582	1,1 ± 0,1
1-hexadeceno	1581	1588	0,4 ± 0,0
<i>cis</i> -calamenen-10-ol (S71)	1651	1660	<0,1
<i>trans</i> -calamenen-10-ol (S72)	1658	1668	0,2 ± 0,0
cadaleno (S73)	1666	1676	<0,1
<i>cis</i> -14- <i>nor</i> -muurol-5-en-4-one (S74)	1678	1688	0,3 ± 0,0
2-pentadecanona	1692	1697	0,2 ± 0,0
<i>n</i> -eicosano	2000	2000	0,2 ± 0,0

continua

TABELA 40. COMPOSIÇÃO DO ÓLEO DA FRAÇÃO SCA-I DO EXTRATO HEXÂNICO DE *S. canescens*.

Composto	conclusão		
	IR ^{calc.}	IR ^{lit.}	%
<i>n</i> -heneicasano	2100	2100	0,2 ± 0,0
<i>n</i> -docosano	2200	2200	0,2 ± 0,0
<i>n</i> -tricosano	2300	2300	0,2 ± 0,0
<i>n</i> -tetracosano	2400	2400	0,2 ± 0,0

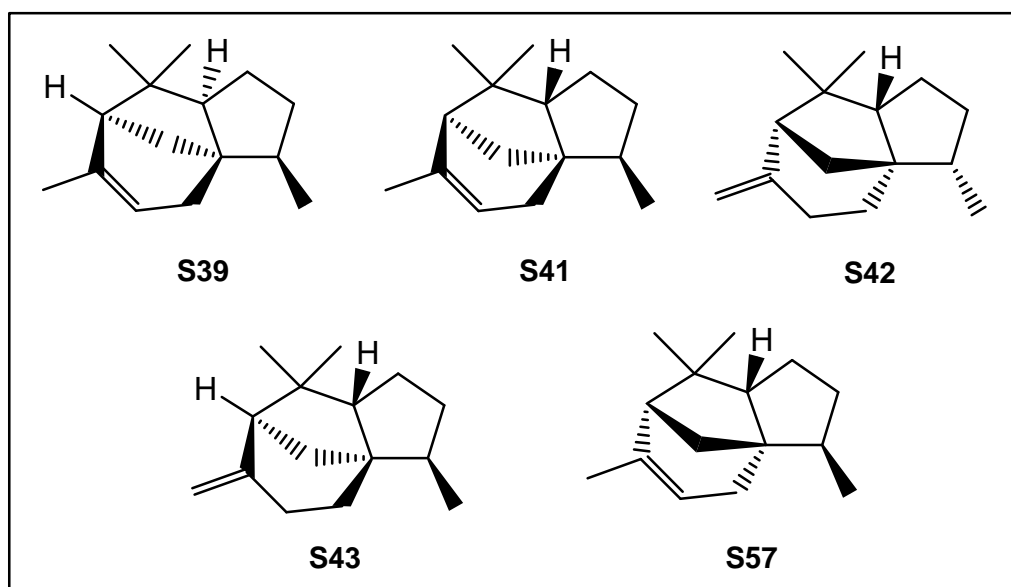


FIGURA 204. Sesquiterpenos com esqueleto cedrano identificados em *S. canescens*.

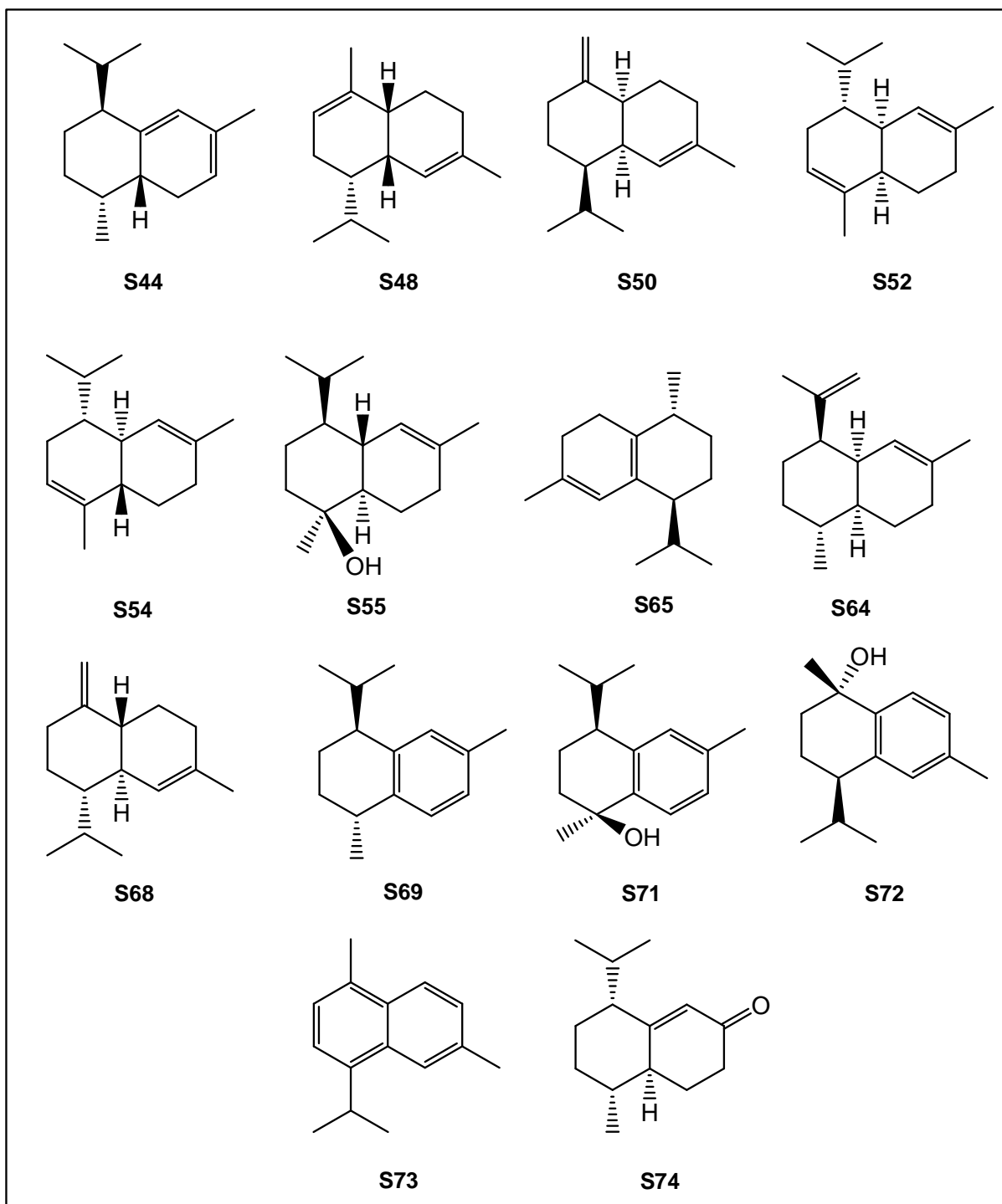


FIGURA 205. Sesquiterpenos com esqueleto cadinano identificados em *S. canescens*.

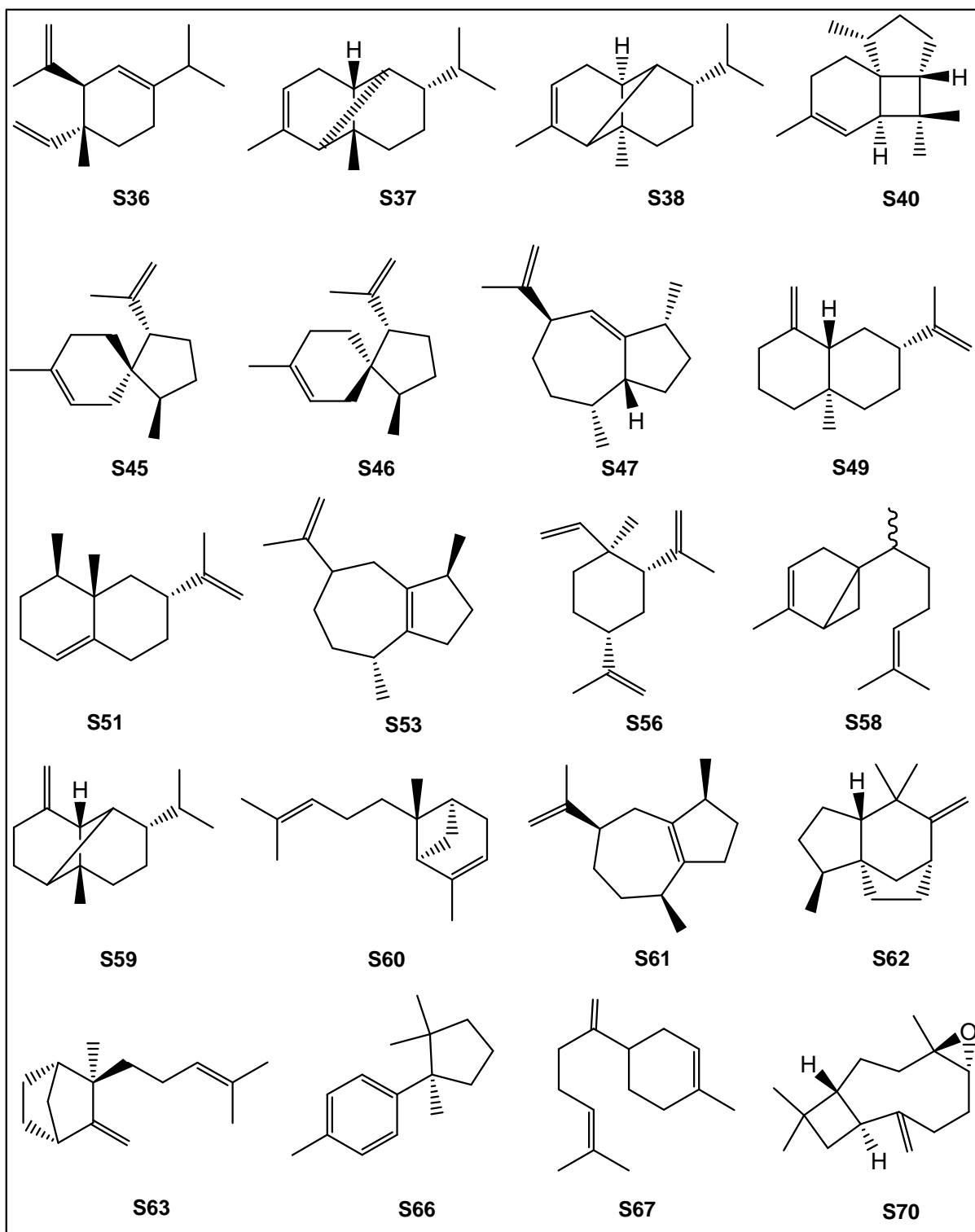


FIGURA 206. Sesquiterpenos com esqueletos diversos identificados em *S. canescens*.

4.10. COMPARAÇÃO DOS EXTRATOS POR CLAE-DAD

Os extratos e algumas substâncias puras foram submetidos à análise por cromatografia líquida de alta eficiência para documentar seus perfis cromatográficos e também compará-los. Este procedimento foi realizado da mesma forma para todas as amostras, utilizando o gradiente exploratório linear em metanol (Tabela 17; página 85), o qual compreende uma ampla faixa de força da fase móvel, fixando o comprimento de onda em 254 nm.

As substâncias que tiveram seus perfis obtidos por CLAE foram **S1, S2, S3, S6, S24, S25, S26 e S31**. Os respectivos picos de cada composto seguiram a eluição esperada, inicialmente eluíram as substâncias polares e pequenas (**S24, S25, S26**), seguido pelas polares e de maior massa (**S31**) e, finalmente houve a eluição das substâncias menos polares (**S1, S2, S3, S6**) (Figura 207; página 243). Foram obtidos os espectros no UV dessas substâncias (Figura 209; página 245), o que associado ao tempo de retenção, permite identificá-las nos extratos. Outras substâncias que foram purificadas de *S. canescens* por CLAE (Figura 208; página 244), tiveram seus espectros de UV registrados e também foram usadas para identificação nos extratos brutos (Figura 210; página 246).

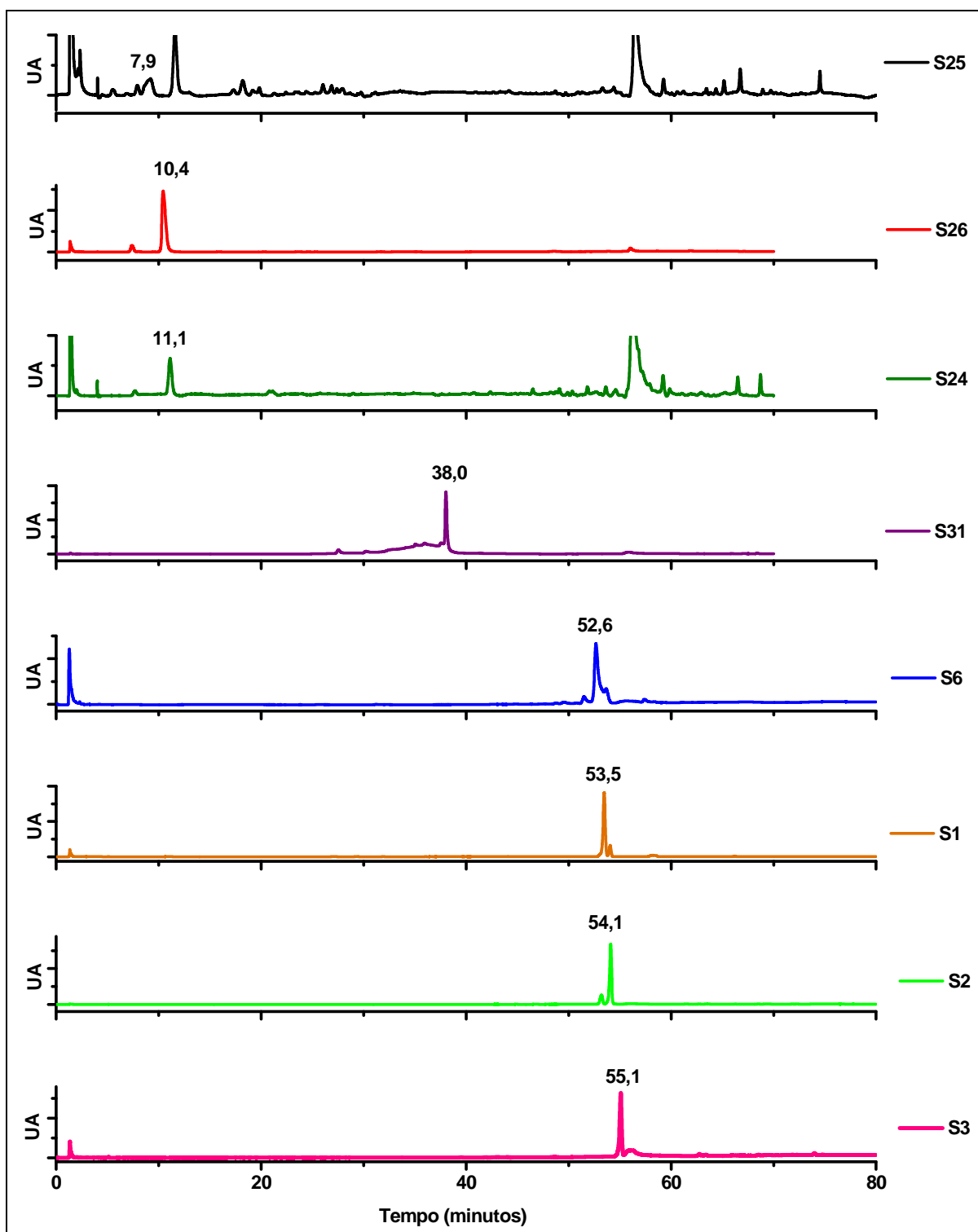


FIGURA 207. Cromatogramas das substâncias isoladas **S1**, **S2**, **S3**, **S6**, **S24**, **S25**, **S26** e **S31** no gradiente linear exploratório de metanol, com seus respectivos tempos de eluição.

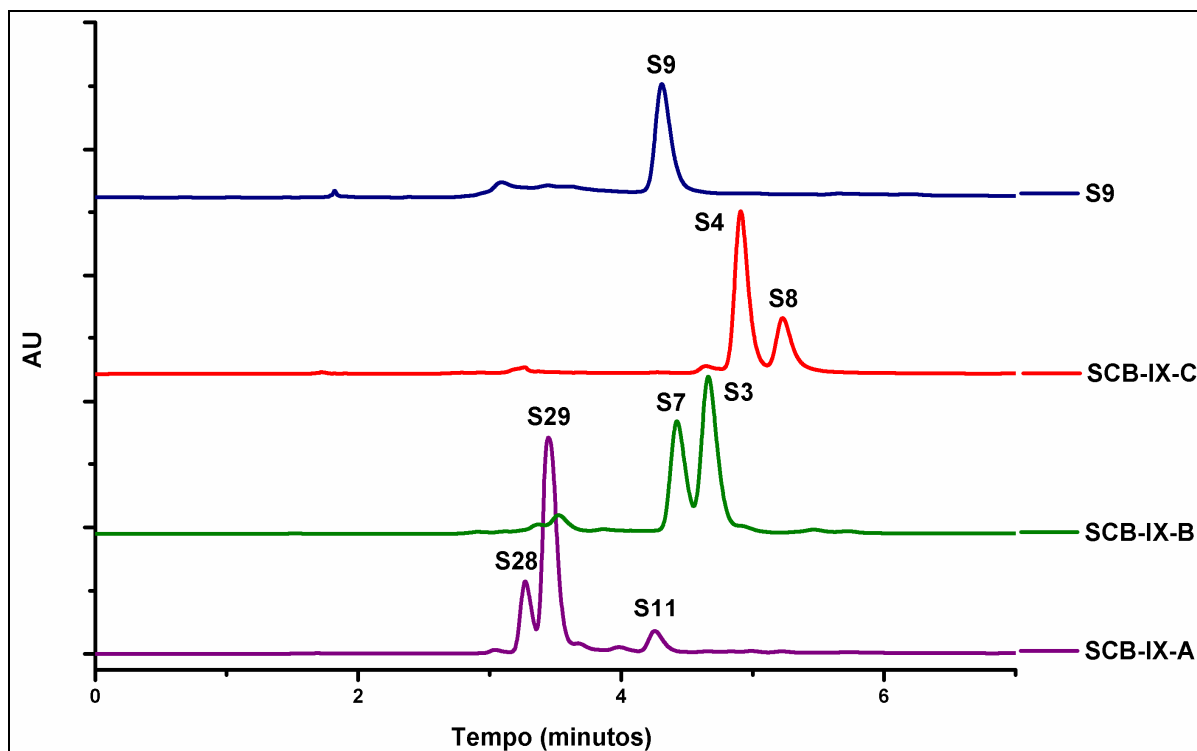


FIGURA 208. Comparação dos cromatogramas das frações SCB-IX-A, SCB-IX-B e SCB-IX-C e da substância **S9** no método isocrático de H₂O:ACN/20:80 e fluxo de 1,0 mL min⁻¹, com identificação dos compostos isolados.

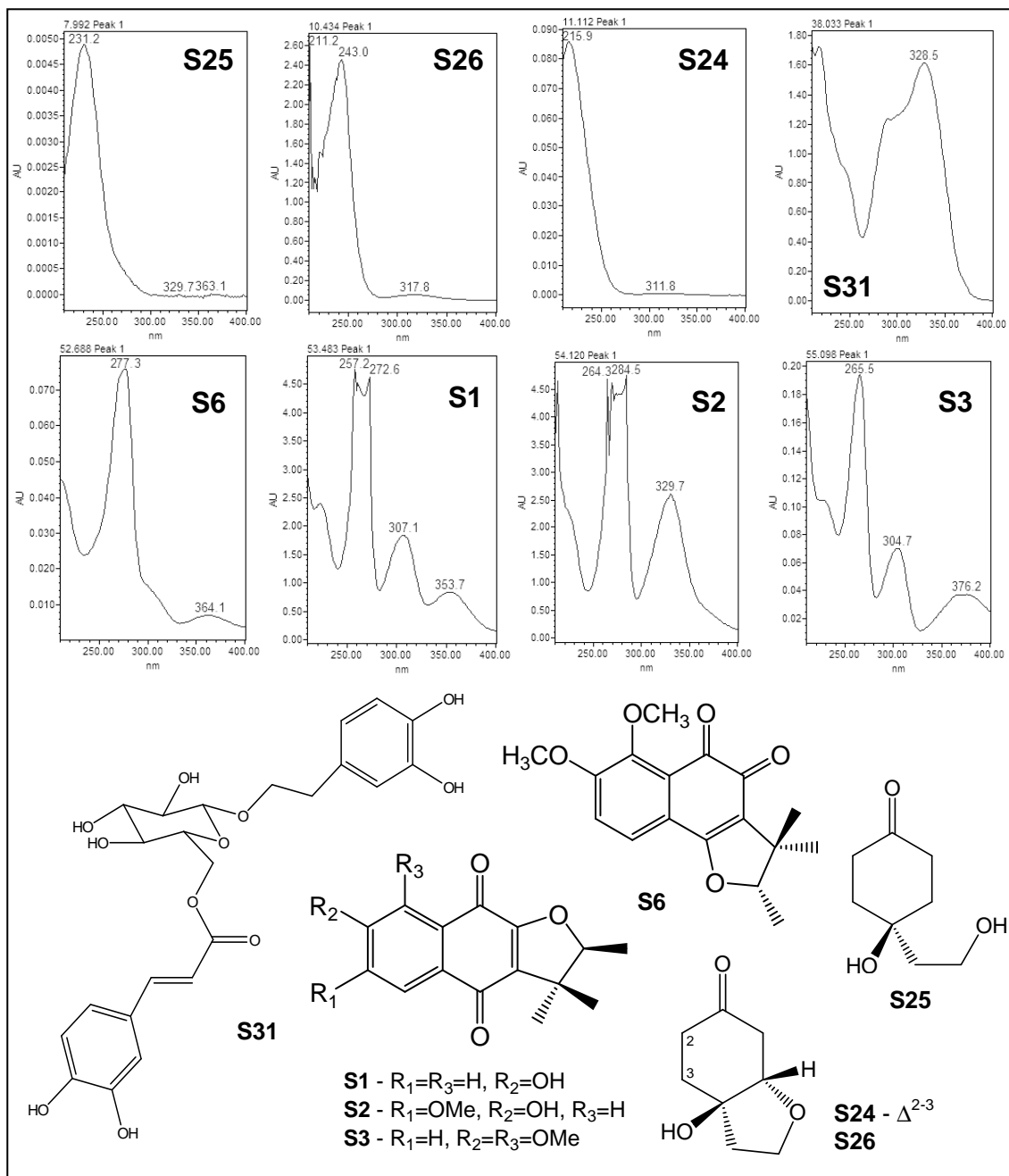


FIGURA 209. Espectros de UV obtidos dos cromatogramas das substâncias **S1**, **S2**, **S3**, **S6**, **S24**, **S25**, **S26** e **S31**.

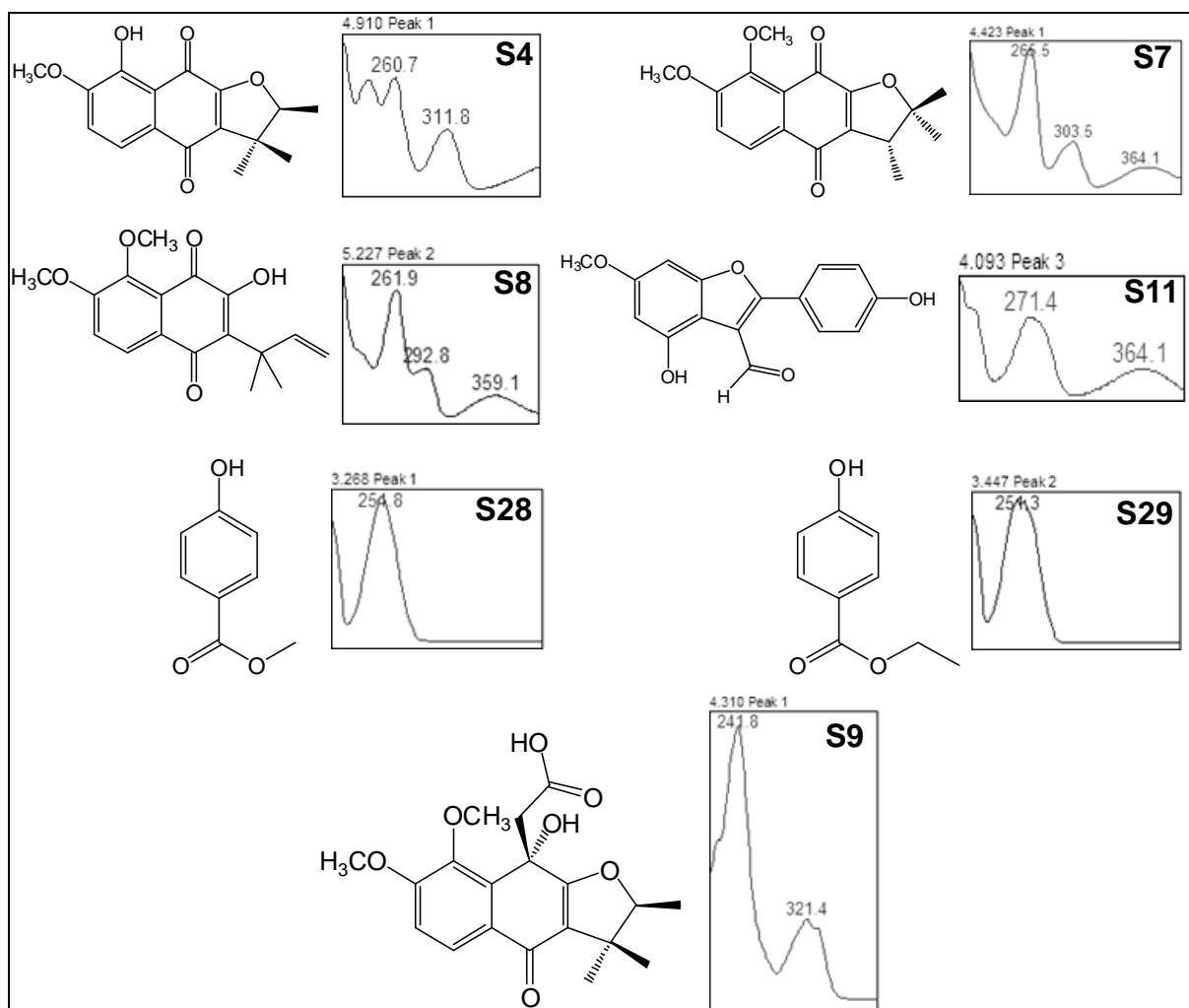


FIGURA 210. Espectros de UV obtidos dos cromatogramas das substâncias **S4**, **S7**, **S8**, **S9**, **S11**, **S28** e **S29**.

Analisando os cromatogramas dos extratos em hexano dos tubérculos das três coletas de *S. leucotricha* (Figura 211; página 247), pode-se observar que eles apresentam poucos picos intensos, o que pode ser explicado parcialmente pela presença de poucas substâncias que absorvem na região do UV. Em SLA1 não foi possível identificar nenhum composto. Em SLB1 foram identificadas as substâncias **S1** e **S2** e em SLC1 apenas **S1**.

Analisando o cromatograma obtido do extrato em hexano das folhas de *S. leucotricha* (Figura 212; página 247), não foi possível identificar a presença de naftoquinonas, porém observam-se vários picos acima de 60 minutos, indicando a presença de substâncias pouco polares. Esses resultados mostram que os metabólitos secundários majoritários nas folhas e tubérculos são diferentes.

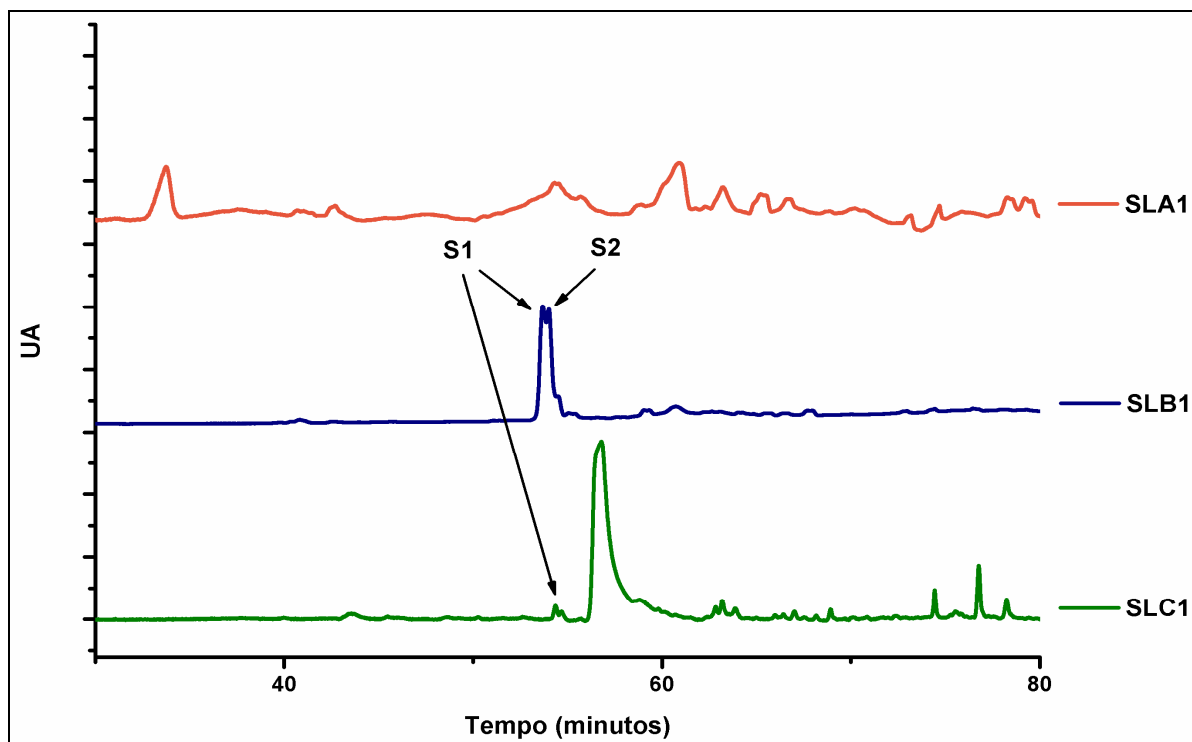


FIGURA 211. Comparação dos cromatogramas dos extratos em hexano das três coletas dos tubérculos de *S. leucotricha* no gradiente exploratório linear de metanol em 254 nm (entre 0 e 30 minutos não há picos).

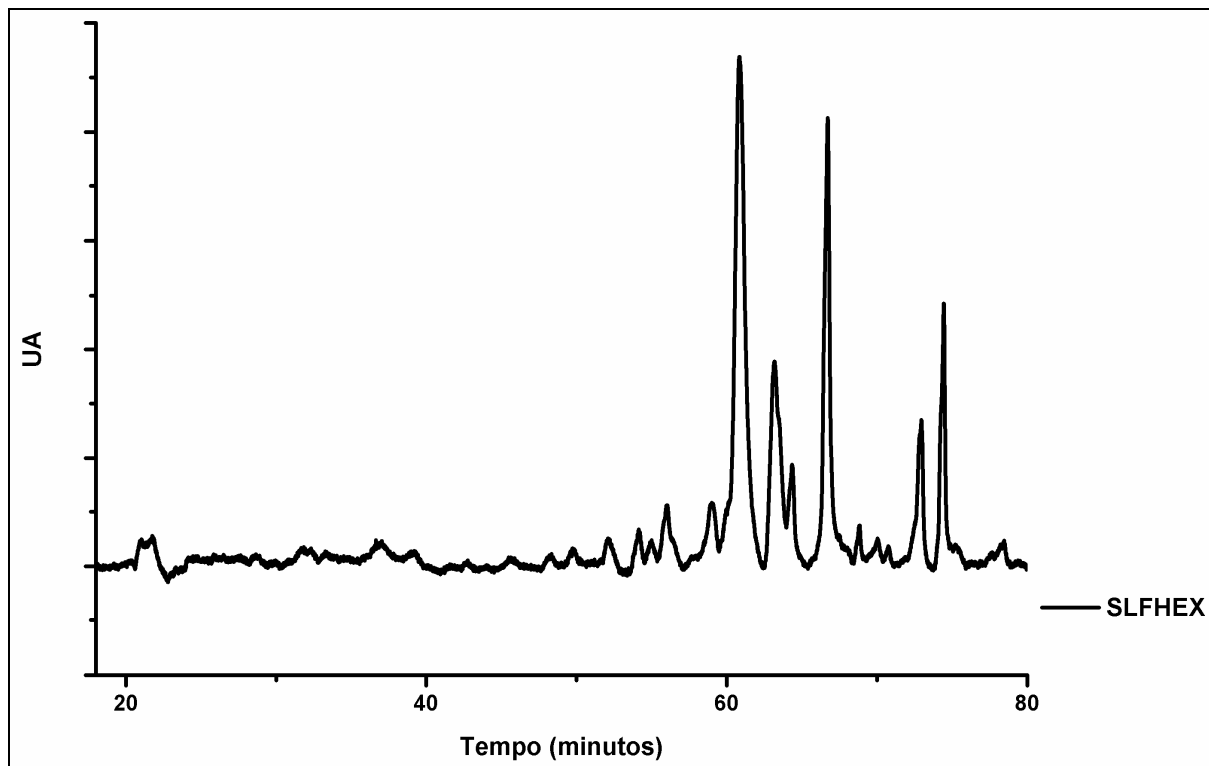


FIGURA 212. Cromatograma do extrato em hexano das folhas de *S. leucotricha* no gradiente exploratório linear de metanol em 254 nm (entre 0 e 18 minutos não há picos).

O cromatograma obtido do extrato em hexano dos tubérculos de *S. canescens* (Figura 213; página 248) mostrou-se um pouco mais complexo do que aqueles de *S. leucotricha*. Foram identificadas as quinonas **S2**, **S3**, **S4** e **S8**.

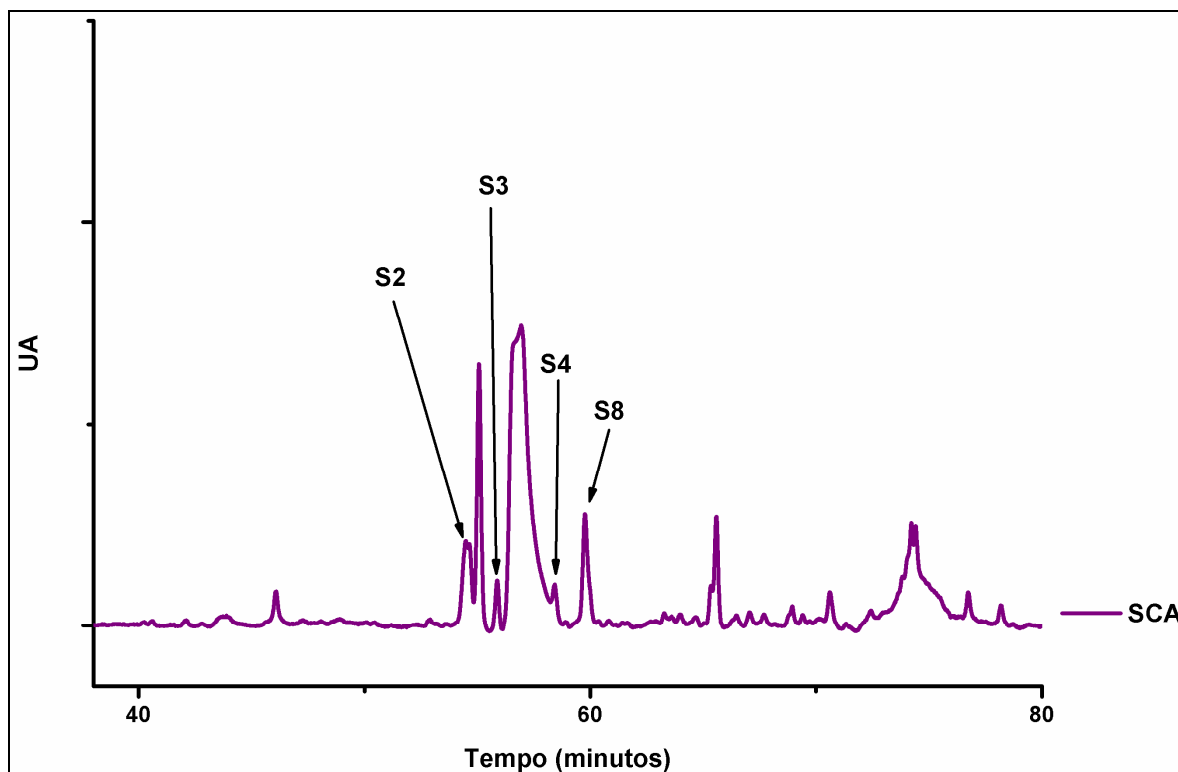


FIGURA 213. Cromatograma do extrato em hexano dos tubérculos de *S. canescens* no gradiente exploratório linear de metanol em 254 nm.

Ao compararmos os cromatogramas obtidos dos extratos em diclorometano dos tubérculos das três coletas de *S. leucotricha* (Figura 214; página 249), há picos referentes as naftoquinonas nos três extratos. Em SLA2 foi observado a presença de **S2** (54,2 minutos), em SLB2 foram identificadas **S1** e **S2**, e em SLC2, **S1** e **S24**.

No extrato em diclorometano das folhas de *S. leucotricha* (Figura 215; página 249) não foram detectadas naftoquinonas, nem outro composto isolado dos tubérculos.

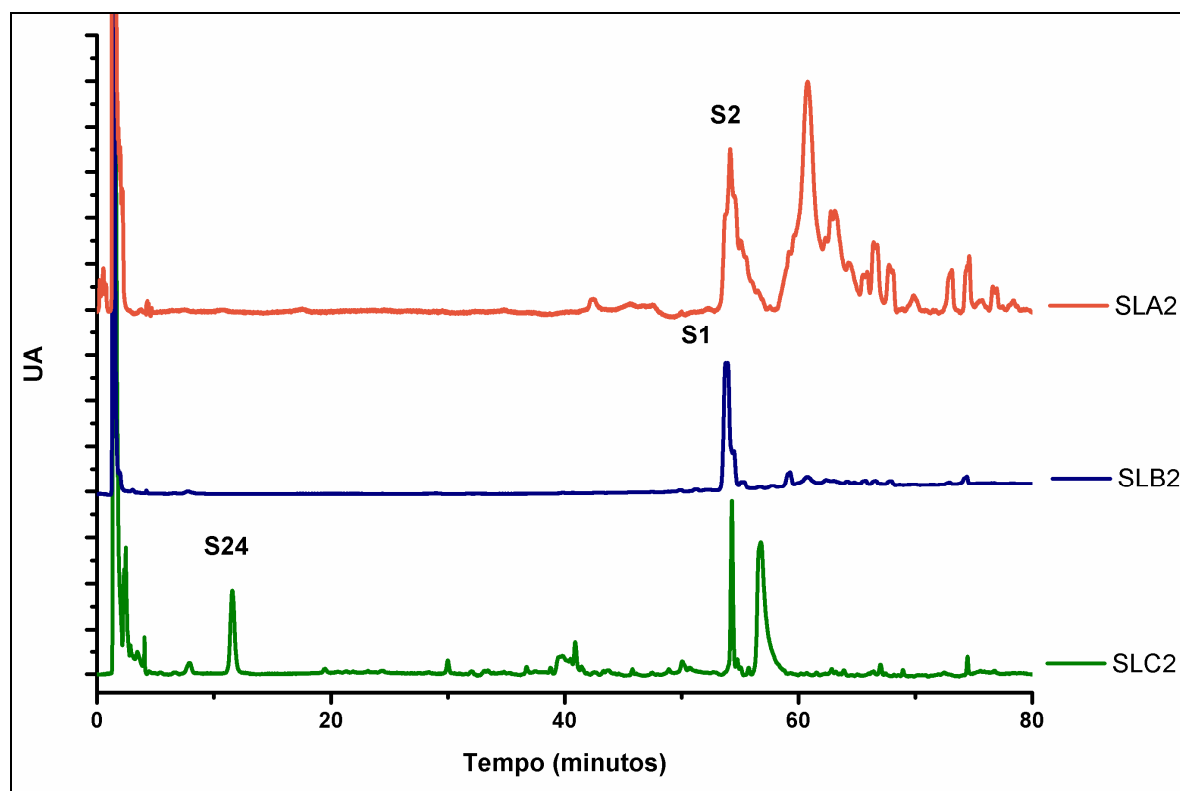


FIGURA 214. Comparação dos cromatogramas dos extratos em diclorometano das três coletas dos tubérculos de *S. leucotricha* no gradiente exploratório linear de metanol em 254 nm.

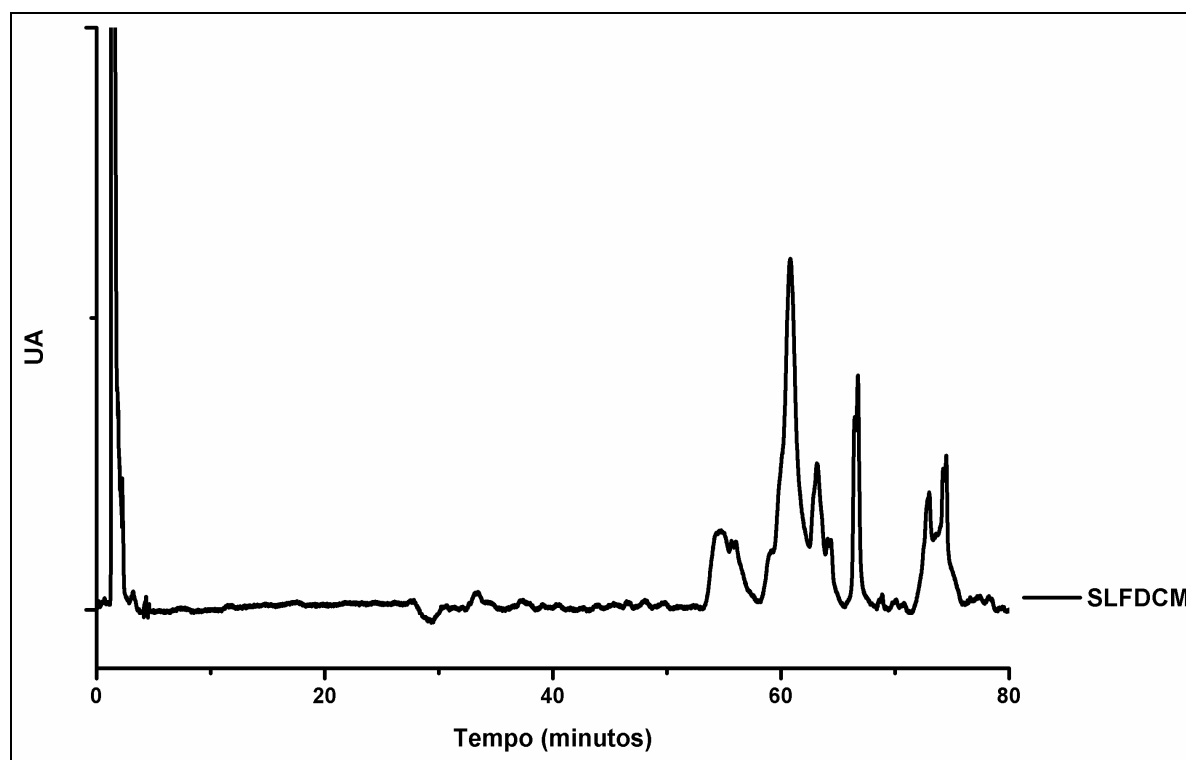


FIGURA 215. Cromatograma do extrato em diclorometano das folhas de *S. leucotricha* no gradiente exploratório de metanol em 254 nm.

O perfil cromatográfico do extrato em diclorometano dos tubérculos de *S. canescens* (SCB) (Figura 216; página 250), é muito mais complexo que aqueles apresentados pelos correspondentes extratos dos tubérculos de *S. leucotricha*. Foram identificadas sete substâncias: **S1**, **S2**, **S3**, **S4**, **S9**, **S24** e **S25**.

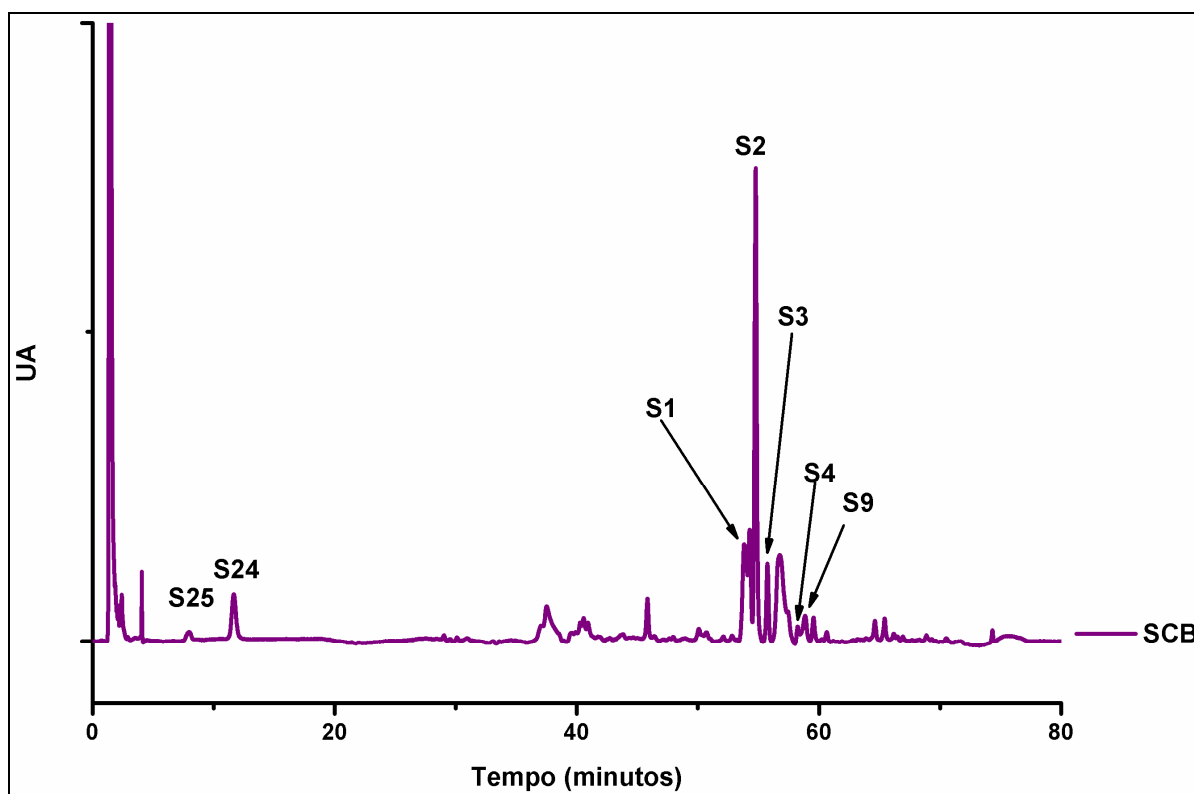


FIGURA 216. Cromatograma do extrato em diclorometano dos tubérculos de *S. canescens* no gradiente exploratório linear de metanol em 254 nm.

Os extratos dos tubérculos das três coletas de *S. leucotricha* em acetato de etila (SLA4 e SLC3) ou em acetona (SLB3), que apresentam polaridades similares, também foram comparados (Figura 217; página 251). Pode-se observar que SLA4 apresentou poucos picos na região de substâncias pouco polares. Em SLB3 foram identificadas **S1** e **S2**, enquanto em SLC3 foram identificadas **S1**, **S24**, **S31** e **S34**. Esses cromatogramas mostram claramente que glicosídeos fenólicos foram acumulados apenas nos tubérculos da 3ª coleta, o que pode ser consequência do crescimento em condições climáticas diferentes do local de origem da planta.

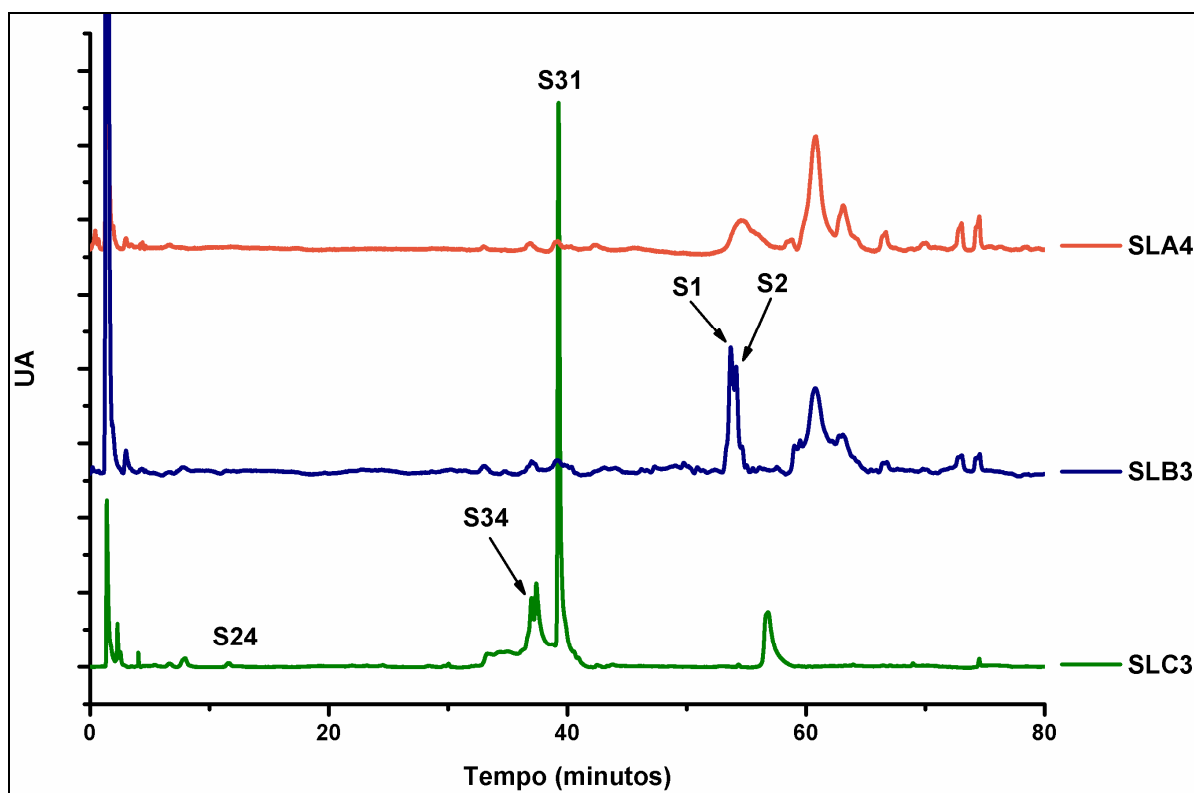


FIGURA 217. Comparação dos Cromatogramas dos extratos em acetato de etila (SLA4 e SLC3) ou acetona (SLB3) das três coletas dos tubérculos de *S. leucotricha*.

O cromatograma do extrato em acetato de etila dos tubérculos de *S. canescens* (Figura 218; página 252) apresentou picos intensos entre 30 e 40 minutos, que são característicos de glicosídeos fenólicos. Foram identificadas cinco substâncias: **S2**, **S24**, **S25**, **S31** e **S34**. Pode-se dizer que esse extrato de *S. canescens* é similar ao extrato da terceira coleta de *S. leucotricha*, possuindo etilcicloexanóides, glicosídeos fenólicos e naftoquinonas, mas destacando-se os glicosídeos fenólicos.

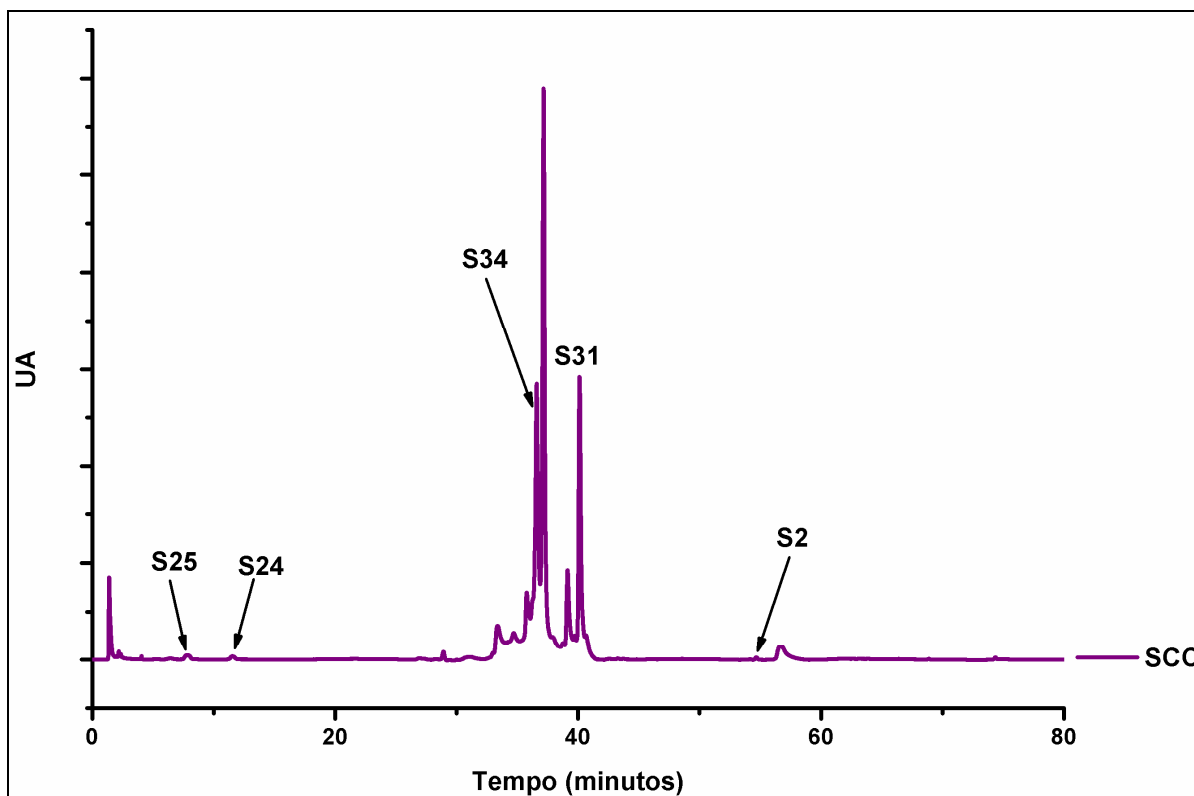


FIGURA 218. Cromatograma do extrato em acetato de etila dos tubérculos de *S. canescens* no gradiente exploratório linear de metanol em 254 nm.

Comparando-se os extratos em metanol (SLA5) e etanol (SLB4 e SLC4) das três coletas dos tubérculos de *S. leucotricha* (Figura 219; página 253), observa-se que no extrato da primeira coleta (SLA5) permaneceram substâncias pouco polares, enquanto que os outros dois contêm glicosídeos fenólicos e outras substâncias polares. Em SLB4 foram identificadas as substâncias **S1** e **S31**. SLC4 apresentou um perfil semelhante, tendo sido identificadas além de **S1** e **S31**, a substância **S34**.

Analisando o extrato etanólico das folhas de *S. leucotricha* (Figura 220; página 253), percebe-se a presença de glicosídeos fenólicos entre 30 e 40 minutos. Portanto, os extratos mais polares de folhas e tubérculos de *S. leucotricha* contêm alguns compostos em comum.

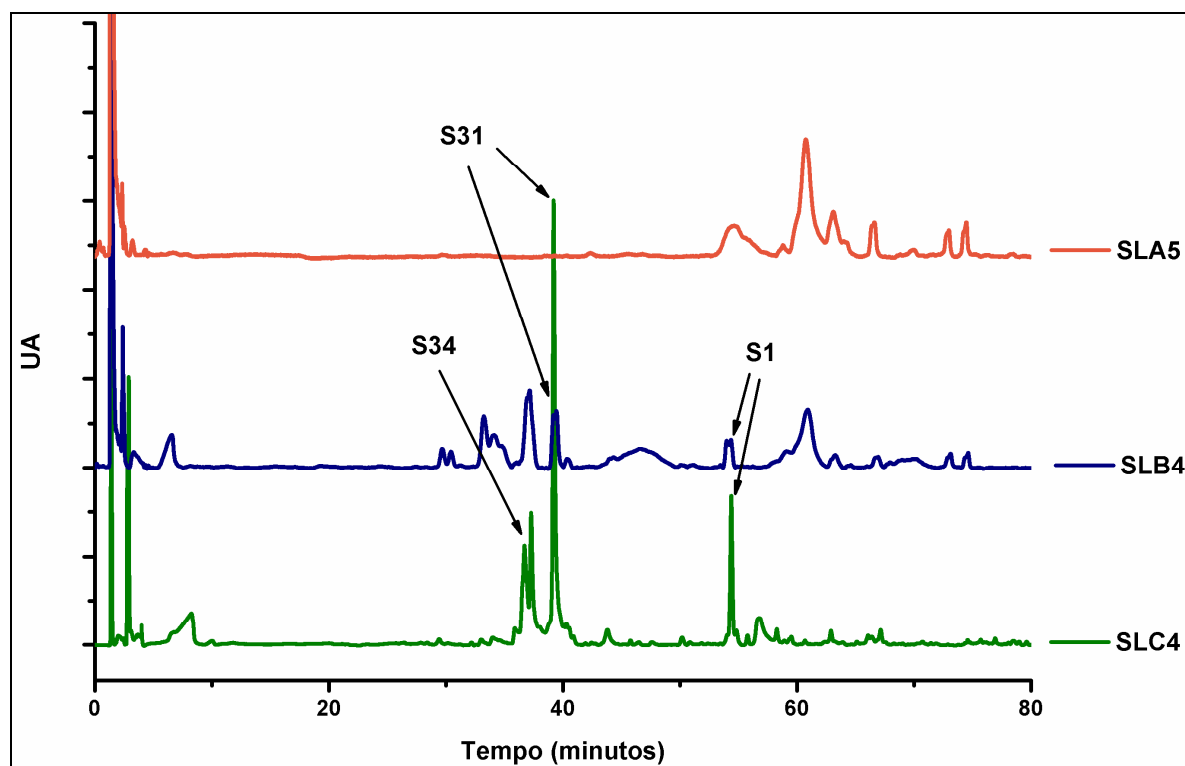


FIGURA 219. Comparação dos cromatogramas dos extratos em metanol (SLA5) ou etanol (SLB4 e SLC4) das três coletas dos tubérculos de *S. leucotricha* no gradiente exploratório linear de metanol em 254 nm.

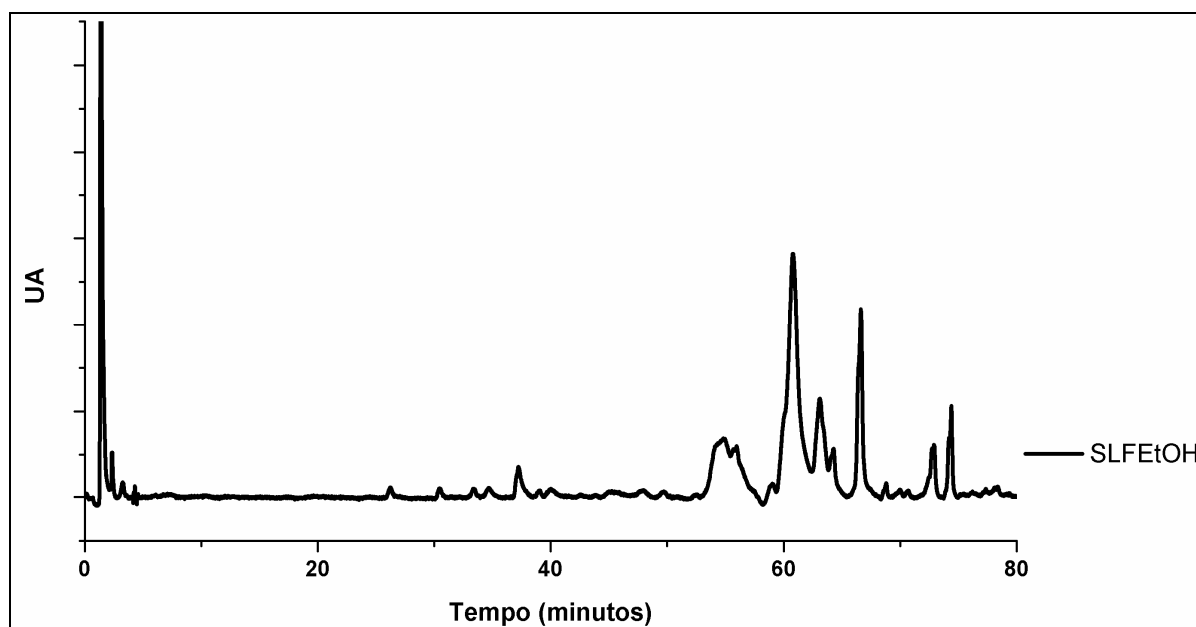


FIGURA 220. Cromatograma do extrato em etanol das folhas de *S. leucotricha* no gradiente exploratório de metanol em 254 nm.

O perfil cromatográfico do extrato etanólico dos tubérculos de *S. canescens* (Figura 221; página 254) apresentou-se muito semelhante à SLC4, possuindo

principalmente picos de glicosídeos fenólicos. Foram identificadas sete substâncias: **S1**, **S2**, **S3**, **S24**, **S25**, **S31** e **S34**.

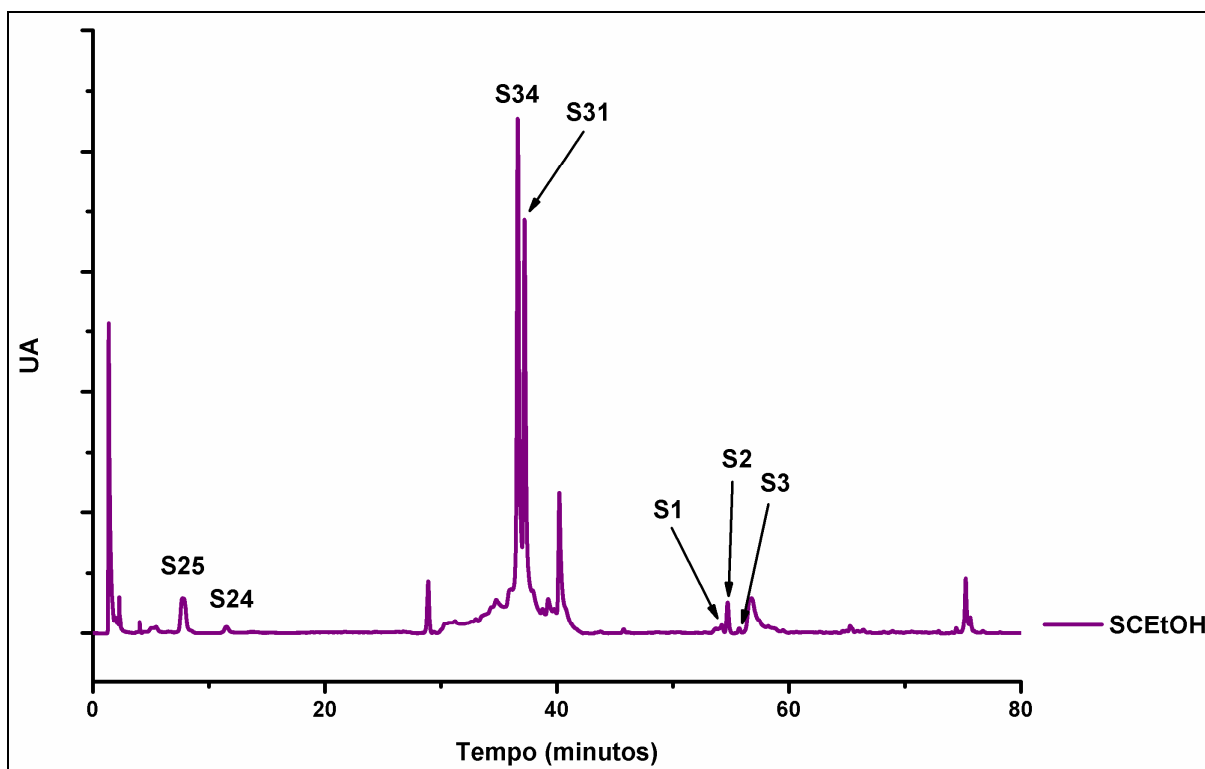


FIGURA 221. Cromatograma do extrato em etanol dos tubérculos de *S. canescens* no gradiente exploratório linear de metanol em 254 nm.

A fração em 1-butanol foi obtida apenas de *S. canescens* e foi dividida em duas frações: SCD e SCE. Esta última foi formada pelo material precipitado durante a evaporação do solvente. Como pode ser observado nos seus cromatogramas (Figura 222; página 255), essas duas frações são muito semelhantes o que já era esperado, uma vez que SCE derivou de SCD por precipitação. Ambas apresentam um pico principal, com duas substâncias, na região de glicosídeos fenólicos. Uma das substâncias pode ser identificada como **S34**, enquanto a outra é um glicosídeo não identificado. Esse segundo glicosídeo não é o mesmo nas duas frações, pois o tempo de retenção é diferente. Para se comprovar a presença majoritária de **S34** nessas frações, os seus espectros de RMN de ^1H foram obtidos (Figura 223; página 255). Os resultados confirmaram que SCD contém majoritariamente a substância **S34** e outro glicosídeo fenólico não identificado.

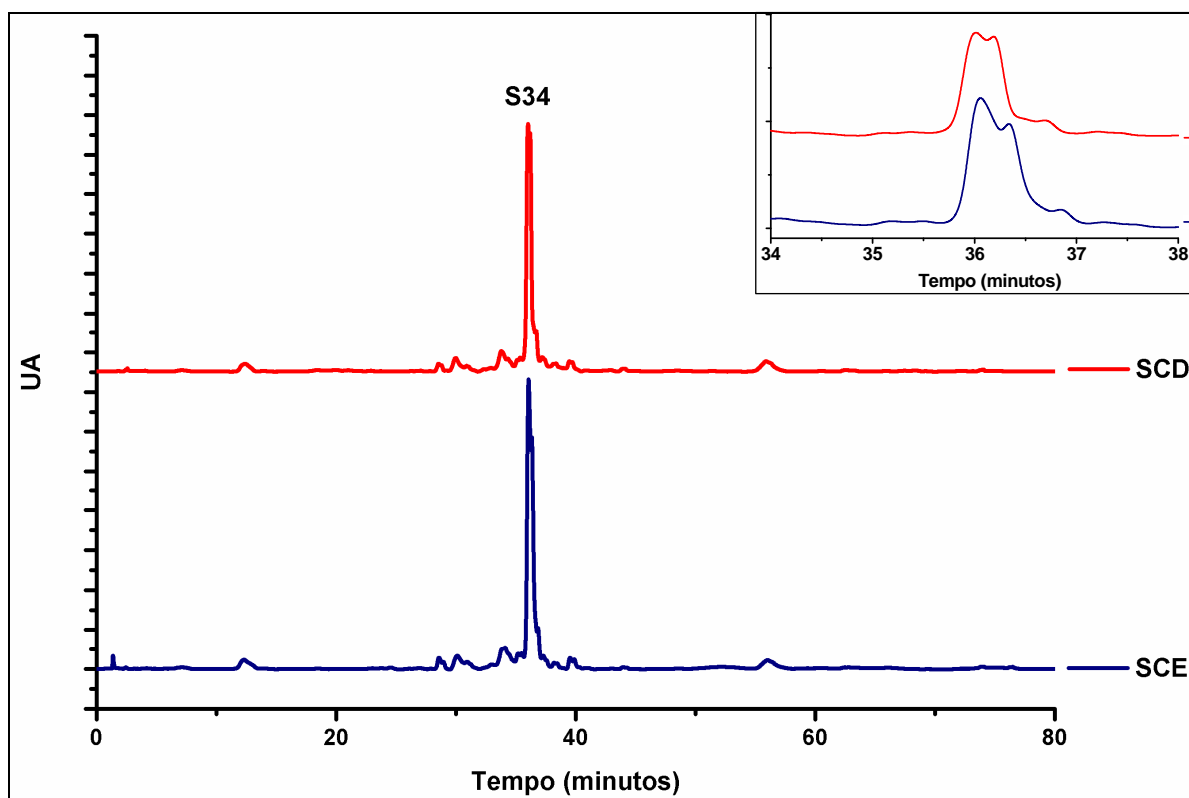


FIGURA 222. Cromatogramas das frações em 1-butanol (SCD e SCE) dos tubérculos de *S. canescens* no gradiente exploratório linear de metanol em 254 nm.

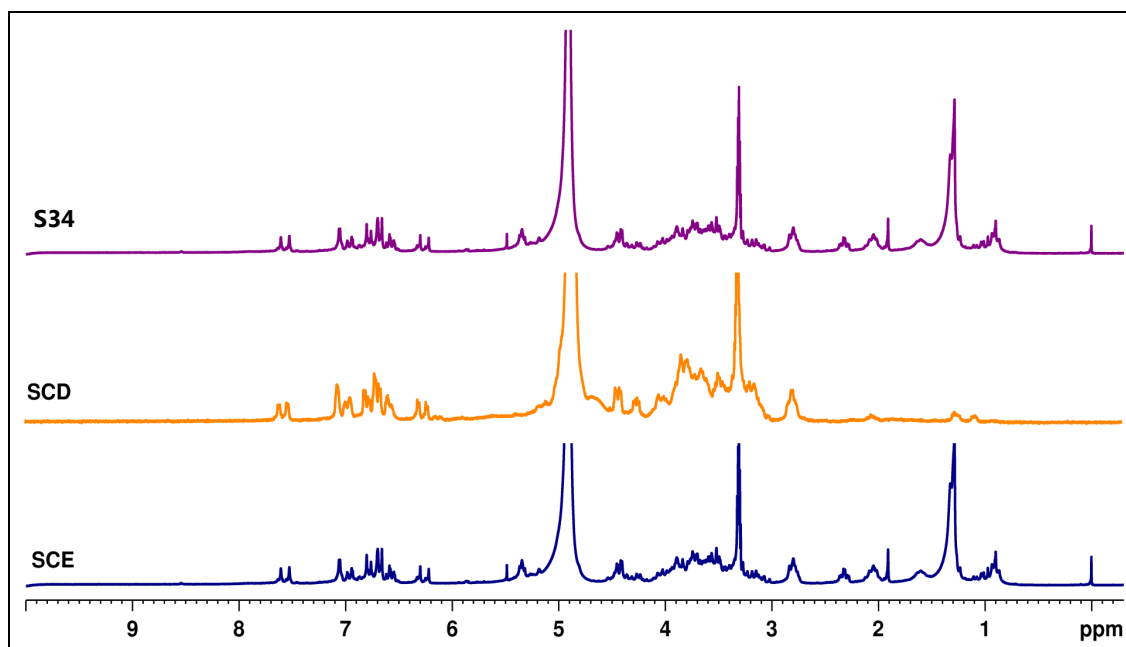


FIGURA 223. Comparação dos espectros de RMN de ^1H da substância **S34** com as frações butanólicas de *S. canescens* SCD e SCE (MeOD, 200 MHz).

O estudo fitoquímico já havia revelado que as duas espécies possuem substâncias em comum. Essa análise por CLAE-DAD mostra que algumas dessas substâncias podem ser identificadas no extrato bruto, sem necessidade de

isolamento. Esse dado é importante para o estudo de outras espécies do gênero.

Algumas informações obtidas dos cromatogramas dos extratos das duas espécies também são visualizadas nos espectros de RMN de ^1H . Observando os espectros dos extratos de *S. leucotricha* (Figura 224; página 256), pode-se verificar que os dois primeiros (SLC1 e SLC2) apresentam principalmente compostos alifáticos, por outro lado os outros dois extratos mais polares (SLC3 e SLC4) apresentam sinais característicos de glicosídeos fenólicos.

Analisando os espectros de RMN de ^1H dos extratos de *S. canescens* (Figura 225; página 257) o mesmo perfil observado para *S. leucotricha* é visto para essa espécie, com os dois primeiros extratos (SCA e SCB) possuindo majoritariamente compostos alifáticos e os outros três extratos mais polares (SCC, SCD e SCE) com sinais característicos de glicosídeos fenólicos.

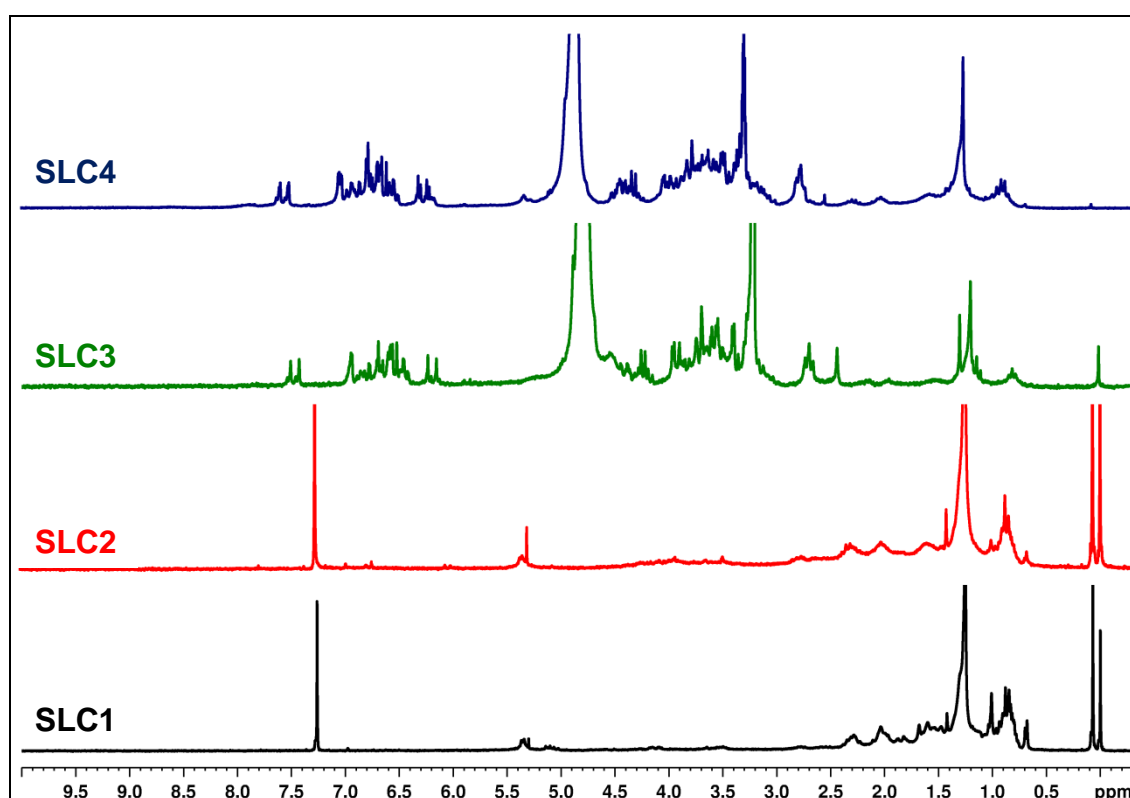


FIGURA 224. Comparação dos espectros de RMN de ^1H dos extratos dos tubérculos de *S. leucotricha* (200 MHz, CDCl_3 ou MeOD).

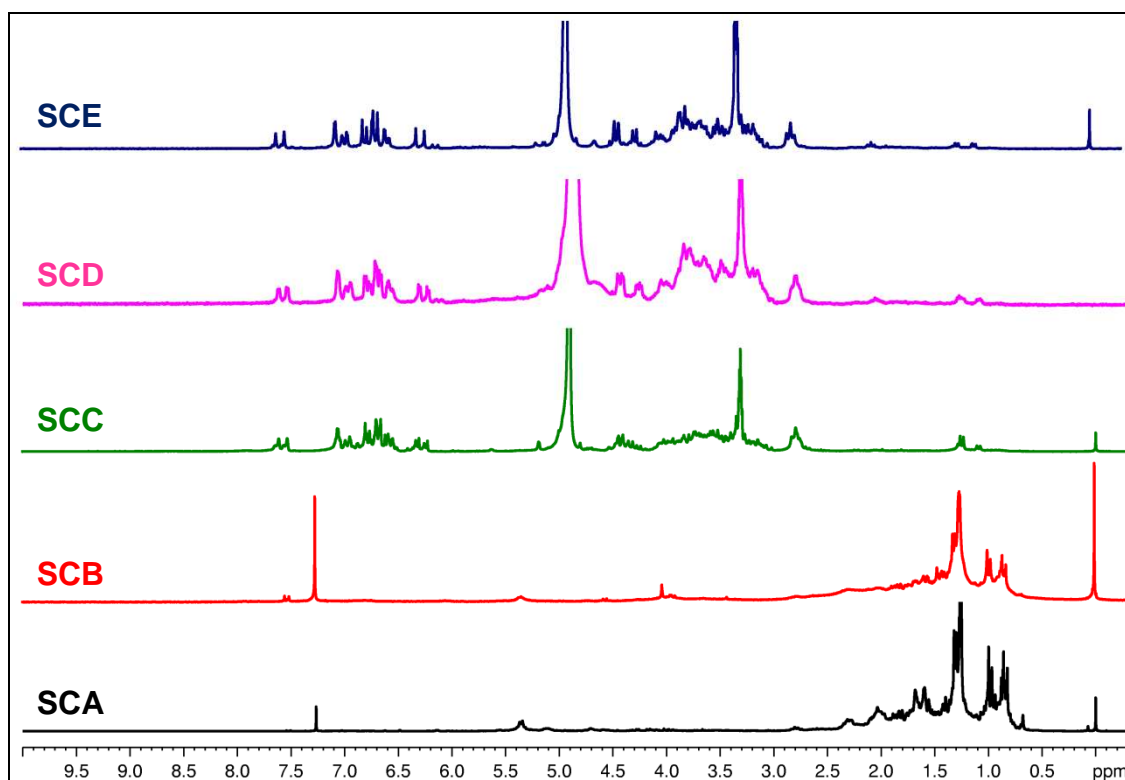


FIGURA 225. Comparação dos espectros de RMN de ^1H dos extratos dos tubérculos de *S. canescens* (200 MHz, CDCl_3 ou MeOD).

Analisando as substâncias isoladas de cada extrato das três coletas de *S. leucotricha*, pode-se concluir que a extração por sohxlet (SLB) não foi seletiva, pois algumas substâncias foram encontradas nos três extratos (éter de petróleo, diclorometano e acetona). Esperava-se que esteroides e substâncias alifáticas de cadeia longa fossem extraídos com éter de petróleo, as substâncias de média polaridade (naftoquinonas e sesquiterpenos) com diclorometano e, o extrato em acetona concentrasse as substâncias mais polares, como os glicosídeos fenólicos. Por outro lado, a extração a frio seguida de CLV foi mais seletiva, pois foram obtidas frações com substâncias de polaridade semelhante.

A partir da fração em hexano de *S. canescens* (SCA) foram isolados naftoquinonas, sesquiterpenos e etilcicloexanos. Estas classes de compostos também foram encontradas na fração em diclorometano (SCB), juntamente com triterpenos e glicosídeos fenólicos. Neste caso, a partição do extrato etanólico com solventes foi eficiente para separar as substâncias em grupos de polaridade semelhante.

Essas observações levam a conclusão de que, para as espécies de *Sinningia*, a obtenção de extratos por maceração a frio é melhor do que a extração a quente

em extrator soxhlet. Pode-se optar pelo uso de vários solventes em ordem crescente de polaridade (hexano, diclorometano, acetato de etila e etanol) ou fazer uma única extração com etanol seguido de partição líquido-líquido com solventes (hexano, diclorometano, acetato de etila, 1-butanol).

4.11. ENSAIOS DE ATIVIDADE CITOTÓXICA

A atividade citotóxica das amostras foi avaliada em valores de TGI (concentração necessária para total inibição do crescimento celular), sendo que são consideradas inativas as amostras com valores de TGI maiores que $50 \mu\text{g mL}^{-1}$, fracamente ativas aquelas com valores entre 50 e $15 \mu\text{g mL}^{-1}$, moderadamente ativas entre 15 e $6,25 \mu\text{g mL}^{-1}$ e potentes são as amostras com valores de TGI menores que $6,25 \mu\text{g mL}^{-1}$ (FOUCHE *et al.*, 2008; MENEZES *et al.*, 2013).

O extrato etanólico total de *S. canescens* (SCET) apresentou uma atividade fraca contra as linhagens de células de mama e ovário resistente a múltiplos fármacos, com valores de TGI de 27,82 e $28,87 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. Contra todas as outras linhagens de células esse extrato foi inativo, incluindo as células normais (HaCat), para as quais foi necessária uma concentração de $179,39 \mu\text{g mL}^{-1}$ de extrato para inibir totalmente o crescimento celular (Tabela 41; página 261). As frações obtidas por partição foram um pouco mais potentes do que o extrato total, mas apenas SCE apresentou uma atividade fraca contra linhagens de células de ovário resistente a múltiplos fármacos (NCI-ADR/RES), pois apresentou um valor de TGI de $32,1 \mu\text{g mL}^{-1}$. A atividade dessa fração deve ser consequência do segundo glicosídeo fenólico não identificado. Nenhuma fração de *S. canescens* mostrou toxicidade às células normais. O extrato etanólico total de *S. leucotricha* (SLET) apresentou atividade fraca contra as linhagens de células de melanoma, próstata e cólon (TGI $35,52 - 40,83 \mu\text{g mL}^{-1}$) e atividade forte contra células de leucemia (TGI $0,36 \mu\text{g mL}^{-1}$). Dentre as frações obtidas por partição, aquela que apresentou os menores valores de TGI foi a butanólica (SLT3), que revelou atividade fraca contra células de próstata e cólon (TGI 42,7 e $18,3 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente). A fração em

acetato de etila (SLET2) foi moderadamente ativa contra as células de cólon com o valor de TGI de $15,6 \mu\text{g mL}^{-1}$ e a fração em hexano (SLET1) foi inativa (Tabela 41; página 261). Nenhuma das frações foi ativa contra as células de leucemia. É possível que a grande atividade do extrato etanólico contra essa linhagem celular fosse consequência de um sinergismo entre os diversos componentes ou que a substância ativa tenha ficado na fase aquosa remanescente da partição, que não foi recuperada, ou ainda tenha sofrido decomposição durante a partição e/ou armazenamento das frações.

Das seis substâncias submetidas ao teste de atividade citotóxica (**S1**, **S14**, **S16**, **S25**, **S26** e **S31**), apenas as substâncias **S1** e **S31** deram resultados positivos. **S1** foi potente contra as células de glioma e ovário resistente a múltiplos fármacos (TGI $4,58$ e $4,66 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente); moderadamente ativa contra as células de melanoma, mama, rim, pulmão, próstata e cólon (TGI $11,33$ - $31,31 \mu\text{g mL}^{-1}$); inativa contra as células de ovário, leucemia e a linhagem normal (VERO). Por outro lado, **S31** mostrou apenas uma atividade fraca contra as células de próstata (TGI de $34,3 \mu\text{g mL}^{-1}$). Esses resultados indicam que as naftoquinonas, juntamente com os glicosídeos fenólicos, são as substâncias responsáveis pela atividade citotóxica apresentada pelos extratos de *S. canescens* e *S. leucotricha*. A atividade citotóxica e antitumoral das quinonas tem sido bastante documentada (HAYASHI *et al.*, 1987; XIAO *et al.*, 2011). A substância **S1** já havia sido testada anteriormente, mostrando atividade citotóxica em células tumorais de mama e pancreas (SHERIDAN *et al.*, 2010). Também há registros da atividade citotóxica de glicosídeos fenólicos (JIMÉNEZ; RIGUERA, 1994). Considerando que esta substância estava presente nas duas espécies, pode-se supor que a diferença de atividade observada seja consequência da quantidade desta substância, de sinergismo, ou da presença de substâncias minoritárias que não foram avaliadas ou identificadas.

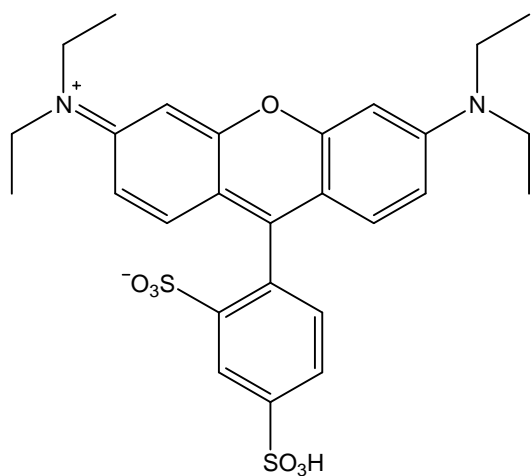
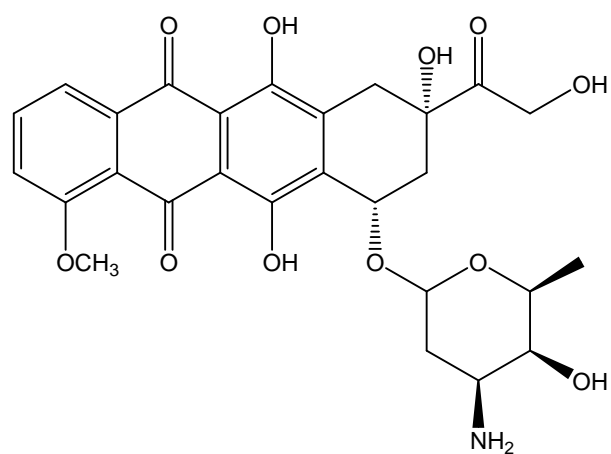
**A****B**

FIGURA 226. Estruturas da sulforodanina B (A) e doxorubicina (B).

TABELA 41. DADOS DE ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA DE *S. leucotricha*, *S. canescens* E DAS SUBSTÂNCIAS **S1** E **S31**.

Linhagens de células	TGI ($\mu\text{g mL}^{-1}$)												
	SCET	SCA	SCB	SCC	SCD	SCE	SLET	SLET1	SLET2	SLET3	S1	S31	Doxorrub.
UACC-62	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	37,32	N.T.	N.T.	N.T.	11,33	78,5	0,56
U251	>250	>150	>150	61,7	>150	73,7	N.T.	>250	161,5	160,8	4,58	52,7	25,3
MCF-7	27,82	>150	>150	65,9	87,7	78,1	143,15	>250	143,1	72,7	13,23	>250	2,58
NCI-ADR/RES	28,87	>150	>150	81,1	90,2	32,1	80,82	>250	>250	>250	4,66	53,5	4,24
786-0	>250	>150	>150	50,5	91,3	57,9	90,53	>250	83,6	181,7	14,34	57,0	2,71
NCI-H460	>250	>150	>150	>150	>150	>150	>250	>250	>250	175,4	15,39	>250	0,57
PC-3	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	35,52	>250	121,6	42,7	20,12	34,3	0,78
OVCAR-3	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	57,93	N.T.	N.T.	N.T.	68,53	N.T.	>25
HT-29	>250	>150	>150	93,5	>150	>150	40,83	90,0	15,6	18,3	31,31	105,2	>25
K562	N.T.	>150	>150	>150	>150	>150	0,36	>250	>250	>250	>75	>250	0,009
VERO	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	>250	59,2	69,7	>75	N.T.	11,6
HaCat	179,39	>150	>150	86,4	106,8	104,6	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	>250	0,37

N.T. – não testado; SCET- extrato etanólico de *S. canescens*; SCA - extrato em hexano de *S. canescens*; SCB - extrato em diclorometano de *S. canescens*; SCC - extrato em acetato de etila de *S. canescens*; SCD - extrato em butanol de *S. canescens*; SCE - precipitado do extrato em butanol de *S. canescens*; SLET – extrato etanólico de *S. leucotricha*; SLET1 – fração em hexano de *S. leucotricha*; SLET2 – fração em acetato de etila de *S. leucotricha*; SLET3 – fração em butanol de *S. leucotricha*; **S1** – 7-hidroxi- α -dunniona; **S31** - calceolariosídeo B; UACC-62 – melanoma; U251 – glioma (SNC); MCF-7 – mama; NCI-ADR/RES – ovário resistente a múltiplos fármacos; 786-0 – rim; NCI-H460 – pulmão, tipo não pequenas células; PC-3 – próstata; OVCAR-3 - ovário; HT-29 – cólon; K562 – leucemia; VERO – rim, célula normal de macaco verde; HaCat – célula normal. - fracamente ativo; - moderadamente ativo; - ativo.

5. PROPOSTAS DE BIOGÊNESE PARA OS COMPOSTOS INÉDITOS ISOLADOS

5.1. NAFTOQUINONAS

As naftoquinonas são biossintetizadas pela via do chiquimato (DEWICK, 1997), passando pelo ácido O-succinilbenzóico (OSB) (INOUE *et al.*, 1984). Derivam do ácido chiquímico (**77**) (Figura 227; página 263), que com fosforilação usando ATP, gera o ácido trifosfatochiquímico (**78**). Esse último ácido sofre adição de uma unidade de fosfoenolpiruvato (PEP) (**79**) pela ação da enzima EPSP sintase, com posterior eliminação-1,2 do ácido fosfórico, resultando no ácido trifosfato-5-enolpiruvilchiquímico (EPSP) (**81**). Para a formação do ácido corísmico (**82**), ocorre eliminação-1,4 de ácido fosfórico, e este passa para seu isômero (ácido isocorísmico) (**83**) por um rearranjo dos grupos hidroxila. O ácido 2-oxoglutárico (**87**) é descarboxilado na presença de TPP (**88**) gerando o ânion TPP do semialdeído succínico (**84**), o qual ataca o ácido isocorísmico em uma reação do tipo Michael (Figura 227; página 263). Na sequência ocorre a saída da TPP (**90**), com formação do ácido 2-succinil-5-enolpiruvil-6-hidroxi-3-ciclohexen-1-carboxílico (SEPHCHC) (**91**), posteriormente eliminação de ácido pirúvico para formar o ácido 2-succinil-6-hidroxi-2,4-cicloexadien-1-carboxílico (SHCHC) (**92**) e desidratação, chegando ao intermediário OSB (**93**). Essa desidratação é uma eliminação *syn* não usual, que envolve a remoção inicial de um próton com estabilização do ânion pelo carboxilato. Esse intermediário sofre adição de tioéster coenzima-A (**94**), na sequência ocorre uma condensação de Claisen que permite a formação de um anel (**95**), desidratação (**96**), hidrólise do tioéster e enolização para o tautômero de menor energia que é o ácido 1,4-diidroxi-naftóico (**97**) (Figura 228; página 264).

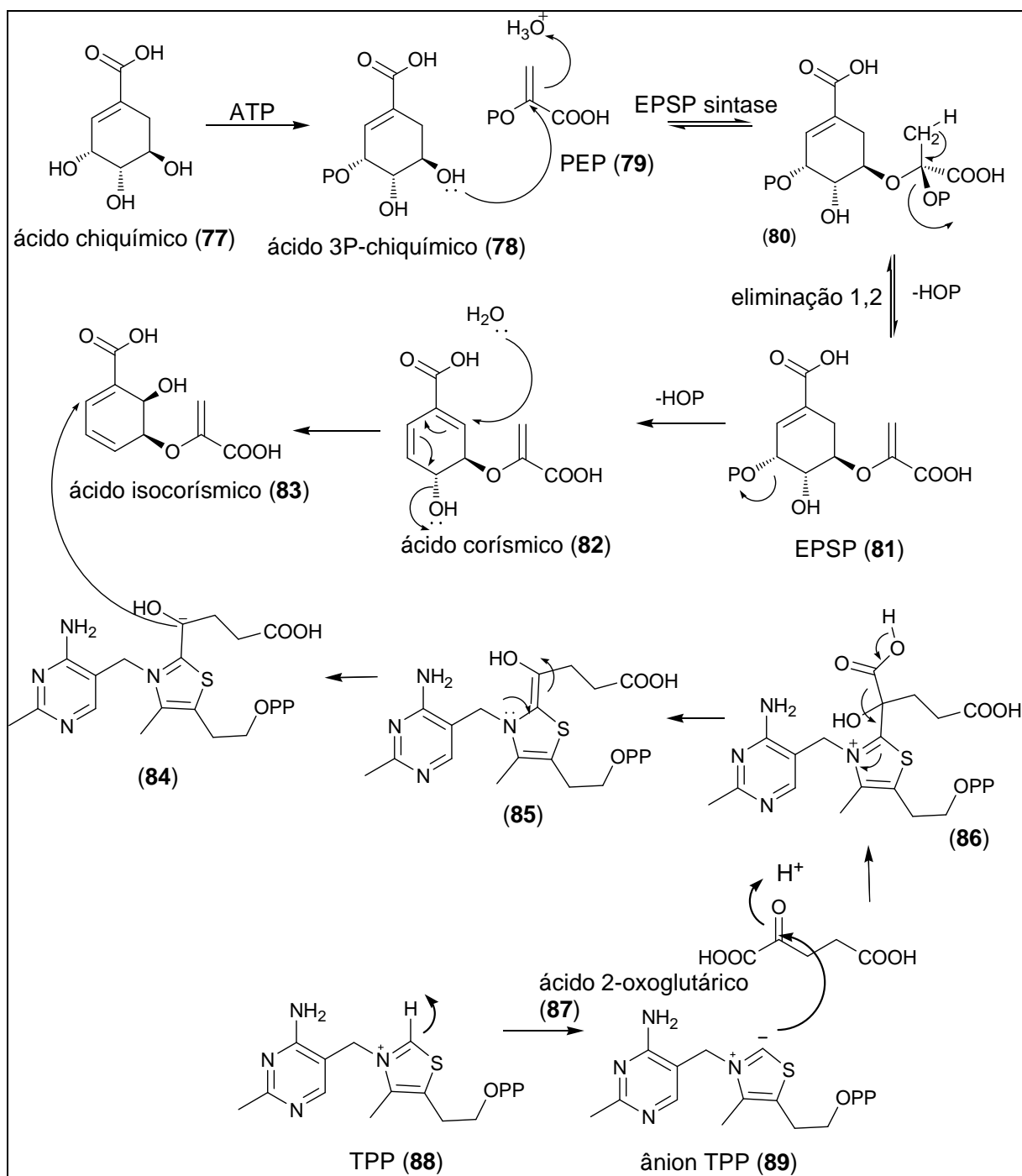


FIGURA 227. Formação do ácido isocorísmico, um intermediário na biossíntese das naftoquinonas (DEWICK, 1997).

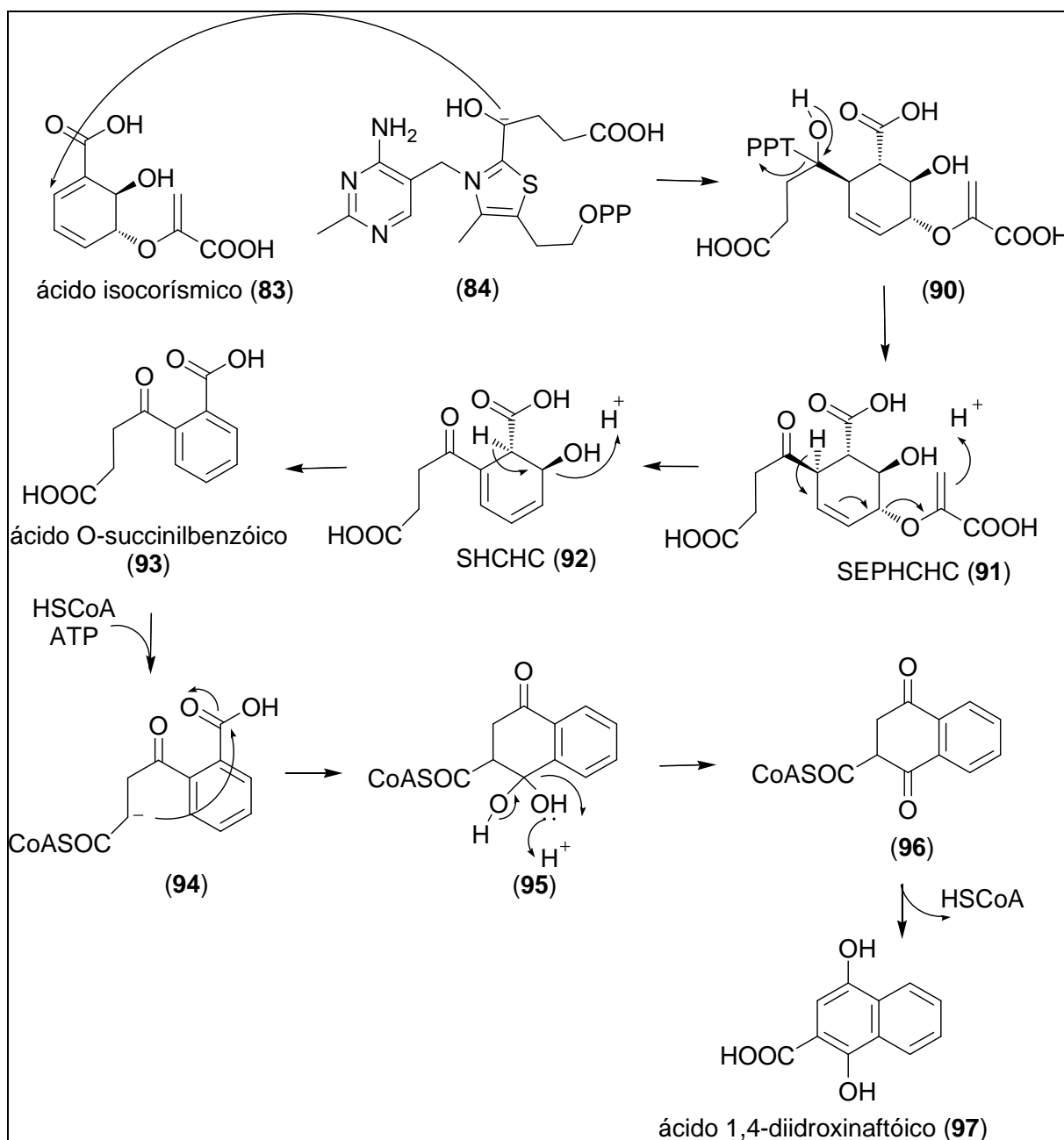


FIGURA 228. Formação do ácido 1,4-diidroquinaftóico, precursor biossintético das naftoquinonas (DEWICK, 1997).

De acordo com Inoue e colaboradores (INOUE *et al.*, 1984), as naftoquinonas de *Streptocarpus dunnii* são biossintetizadas via ácido 1,4-diidroquinaftóico (97) (Figuras 229; página 265), passando por lawsona (98), seguido de prenilação com DMAPP (difosfato dimetilalila) (99), e posterior rearranjo de Claisen para formar a 2-hidroxi-3-(1,1-dimetilalil)-1,4-naftoquinona (102), que é o precursor de todas as naftoquinonas, como por exemplo, a dunniona (104) e a α -dunniona (103) (Figura 229; página 265).

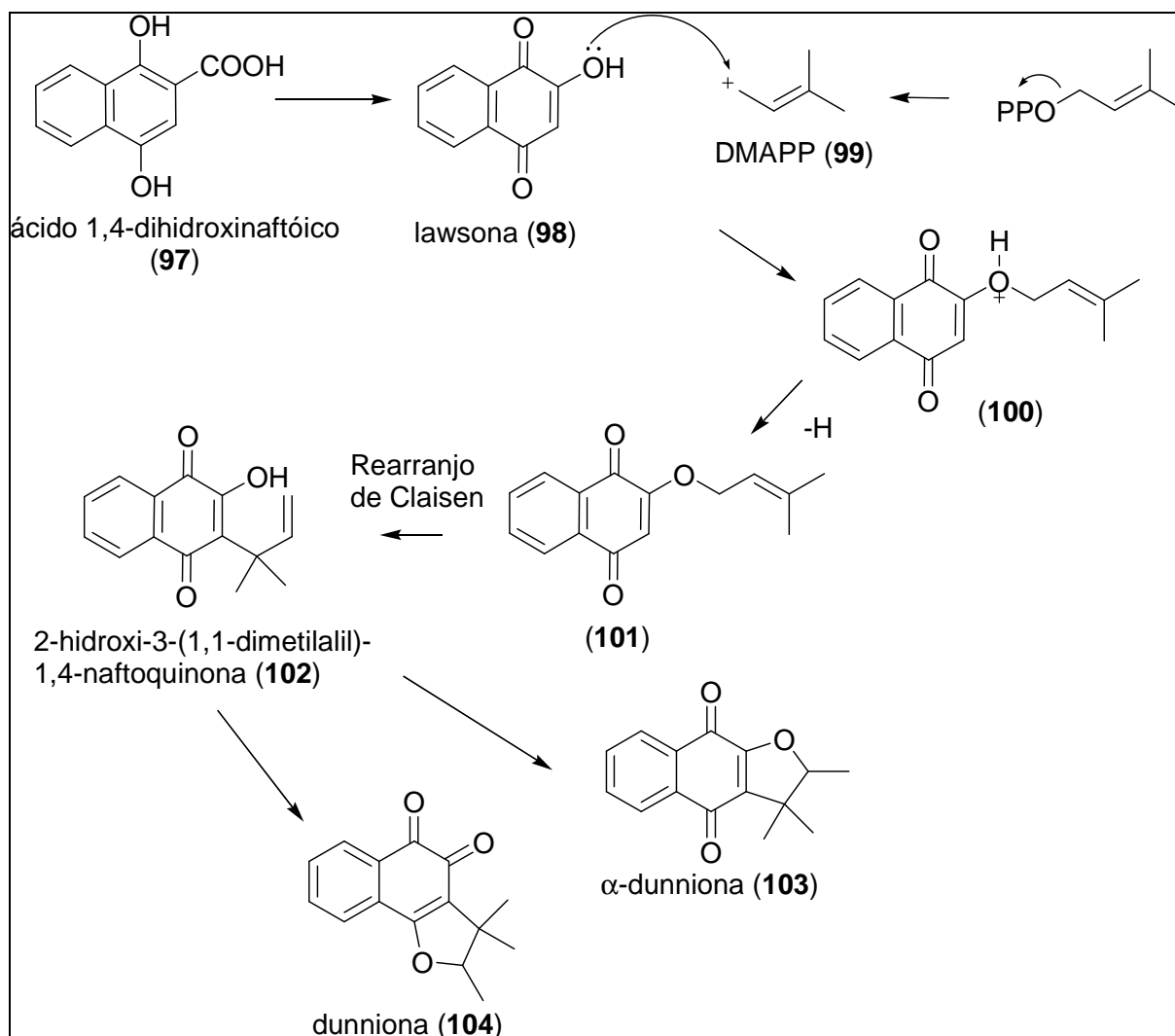


FIGURA 229. Rota biossintética de algumas naftoquinonas a partir do ácido 1,4-dihidroinaftóico.

Após a formação da α -dunniona (103), uma sequência de oxidações por monooxigenases com auxílio de NADPH (fosfato de dinucleotídeo de nicotinamida e adenosina) e O-metilações por metiltransferases com auxílio da SAM (S-adenosina metionina) (106) (Figura 230; página 266) ocorrem para a biossíntese das dunnionas **S1** a **S5**.

A biossíntese de **S7** deve envolver um rearranjo 1,2 de metila, que origina o esqueleto básico da canescenona (105), seguido de oxidação e O-metilação pela SAM. A substância **S9** deriva de **S3** por adição de CH_3COOH (Figura 230; página 266).

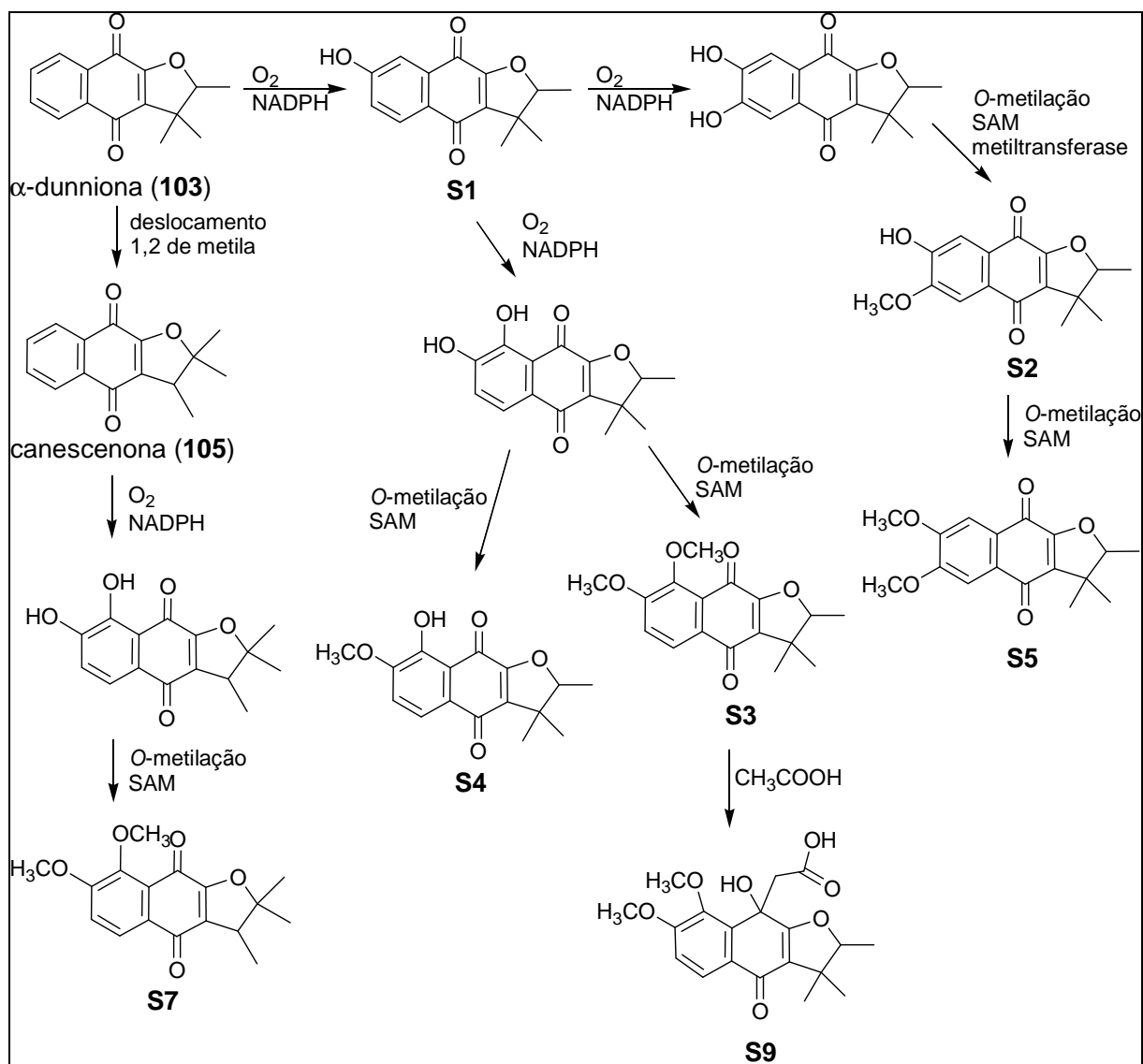


FIGURA 230. Proposta biogenética para as naftoquinonas **S1**, **S2**, **S3**, **S4**, **S5**, **S7** e **S9** a partir da α -dunniona.

A dunniona **S6** pode ser formada a partir da dunniona **104** da figura 229 (página 265), por uma monooxigenase. Com monooxigenases, o segundo átomo de oxigênio do O_2 é reduzido à água por um doador de hidrogênio (NADPH). Para formar **S6**, ocorre, posteriormente, O-metilação pela SAM (Figuras 231 e 232; página 267).

A substância **S8** deve ter sido formada a partir da 2-hidroxi-3-(1,1-dimetilalil)-1,4-naftoquinona (**102**) com consequente oxidação e O-metilação (Figura 233; página 267).

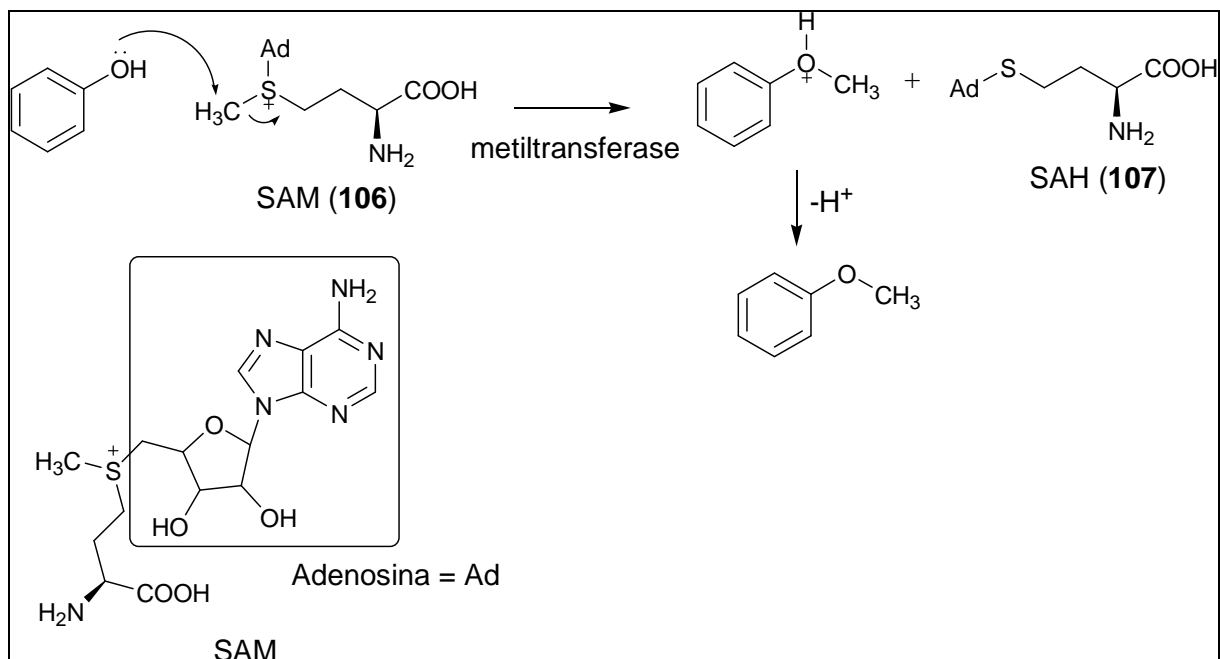
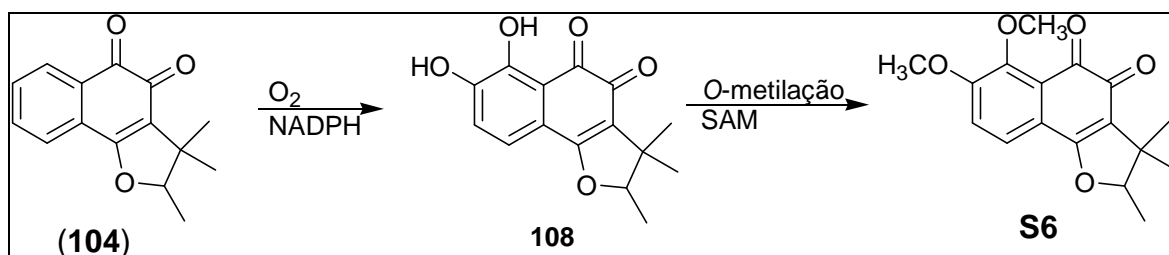
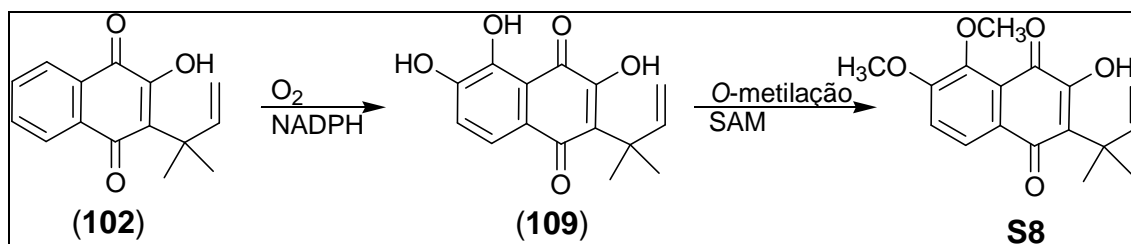


FIGURA 231. Proposta para as reações de O-metilação com auxílio da SAM.

FIGURA 232. Proposta biogenética para a naftoquinona **S6** a partir da dunniona.FIGURA 233. Proposta biogenética para a naftoquinona **S8** a partir do 2-hidroxi-3-(1,1-dimetilalil)-1,4-naftoquinona.

5.2. BENZOFURANOS

O padrão de oxidação dos anéis aromáticos dos benzofuranos sugere uma biossíntese mista, reunindo uma unidade de ácido *p*-cumárico da via do chiquimato, e a floracetofenona da via do acetato. O malonil-CoA (**111**) é formado a partir do acetil-CoA (**110**) com o complexo enzima-biotina (**112**) (Figura 234a; página 269). A união de uma unidade de acetil-CoA com três unidades de malonil-CoA forma um poliketídeo, que após reação de Claisen e enolização, forma a floracetofenona (**114**) (Figura 234b; página 269). Para a formação do ácido *p*-cumárico (**121**) a partir do ácido corísmico (**82**) (Figura 234c; página 269), ocorre primeiramente um rearranjo de Claisen catalisado pela enzima corismato mutase que atua se ligando ao confômero pseudoaxial (**116**) do ácido corísmico, permitindo um estado de transição com conformação cadeira formando o ácido prefênico (**117**). Depois ocorre aromatização descarboxilativa, e perda da hidroxila, catalisada pela enzima prefenato desidratase, para formar o ácido fenilpirúvico (**118**). Após transaminação deste último ácido pela PLP (5'-fosfato pirodoxal), forma-se a L-fenilalanina (L-Phe, **119**) que por oxidação com a enzima hidroxilase dependente de tetraidropterina, sendo o oxigênio da hidroxila derivado de O₂ passa para L-tirosina (L-Tyr, **120**). Com auxílio da TAL (tirosina amônia liase), a partir da L-tirosina forma-se o ácido *p*-cumárico (**121**). Após a formação dos dois precursores, pode ocorrer oxidação pela ação da enzima peroxidase (Figura 235; página 270), com a formação de radicais, que são estabilizados por ressonância (**122** e **123**). A reação entre os radicais ocorre com perda de COCH₃, que é seguida por uma condensação para formação do anel diidrofurano (**125**) (DAVIN; LEWIS, 2003). Reações posteriores, como oxidação do anel diidrofurano, redução do ácido para aldeído (**126**) e na sequência metilação da hidroxila em C-7 levam ao 2-(4'-hidroxifenil)-5-hidroxi-7-metoxi-3-benzofuranal (**S11**). Uma segunda metilação em C-4', forma o 2-(4'-metoxifenil)-5-hidroxi-7-metoxi-3-benzofuranal (**S12**) (Figura 235; página 270).

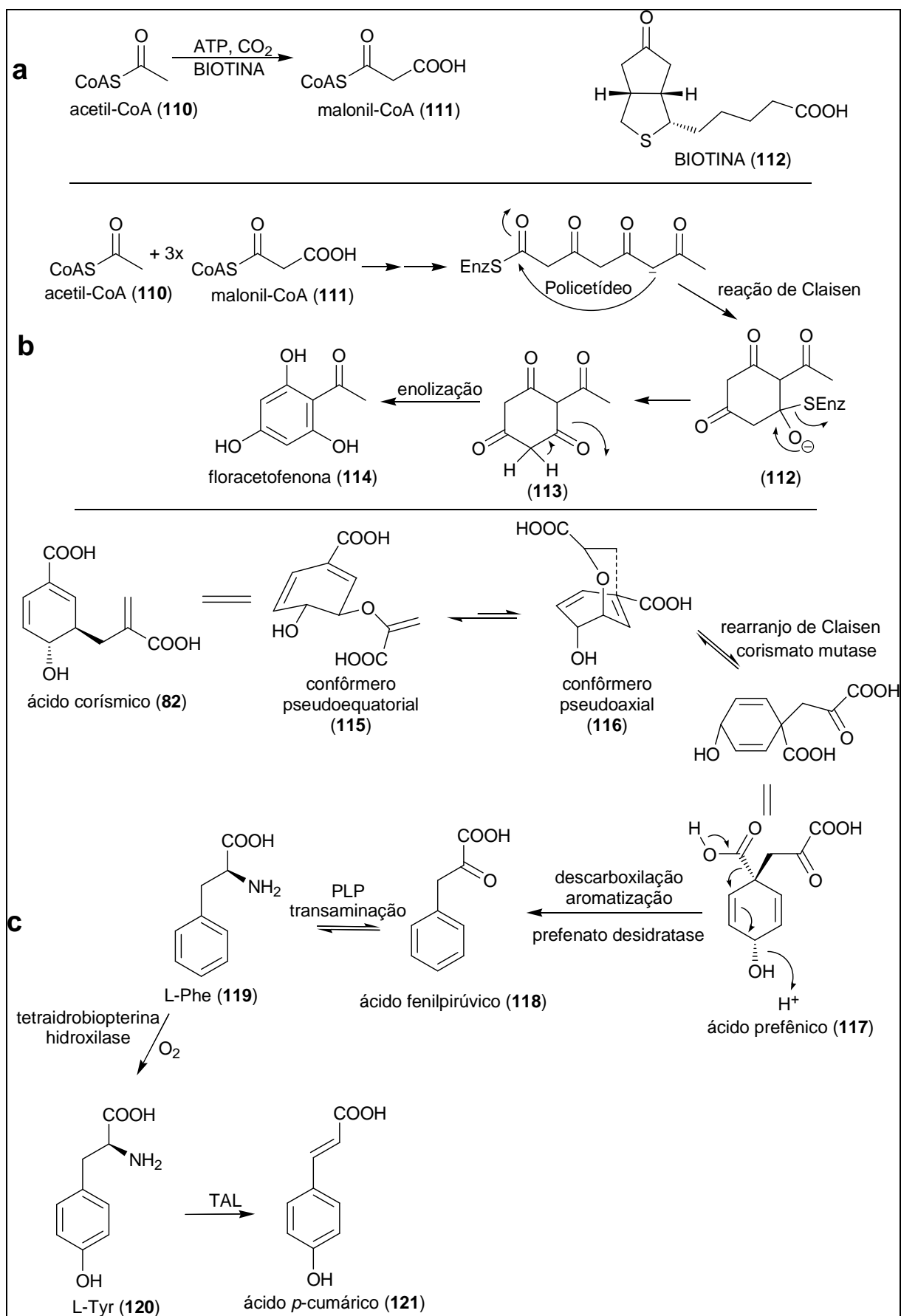


FIGURA 234. Biossíntese do malonil-CoA (a), da floracetofenona (b) e do ácido *p*-cumárico (c).

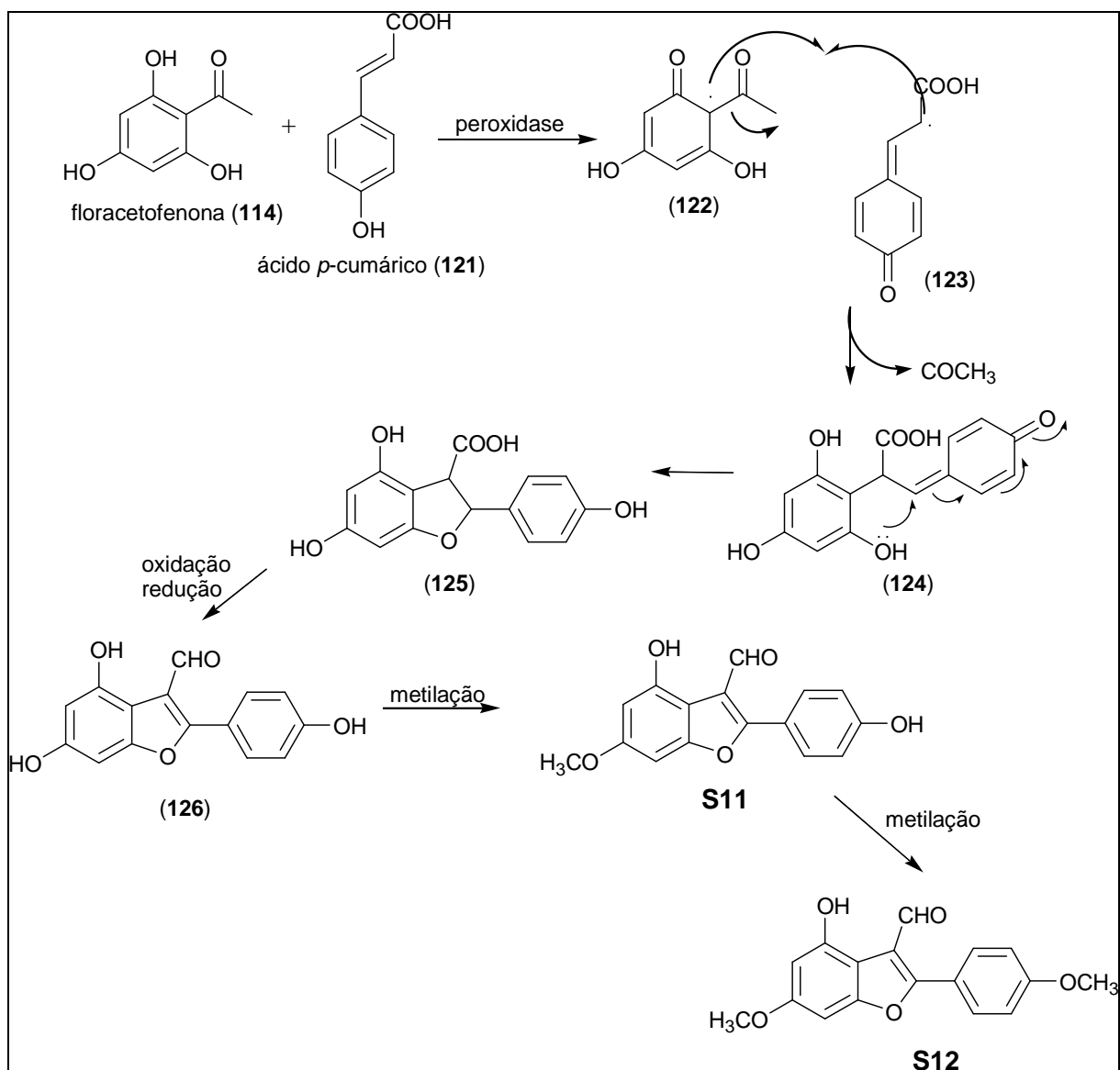


Figura 235. Possível biogênese dos benzofuranos **S11** e **S12**.

5.3. SESQUITERPENOS

Os sesquiterpenos são oriundos da via do mevalonato, ou seja, o ácido mevalônico é o precursor, formado a partir de três unidades de acetil-CoA. Após a formação do ácido mevalônico, com ajuda de ATP, forma-se o difosfato de isopentenila (IPP, **128**), que isomeriza para difosfato de dimetilalila (DMAPP, **99**) com auxílio da enzima isopentenildifosfato isomerase. Uma unidade de DMAPP (**99**) perde o OPP com auxílio da enzima geranildifosfato sintase, gerando um cátion

(**127**) que após adição eletrofílica dessas duas moléculas (**127** + **128**) gera um carbocátion terciário (**129**) que seguido de uma perda de próton estereoespecífica gera o difosfato de geranila (GPP, **130**) (Figura 236; página 272). Este é o precursor dos monoterpenos, mas, com mais uma unidade de IPP, usando a enzima farnesildifosfato sintase, outro carbocátion terciário é formado (**132**) e após perda de próton estereoespecífica, o difosfato de farnesila (FPP, **133**) é gerado. O FPP é o precursor de todos os sesquiterpenos (Figura 236; página 272).

Os esqueletos dos sesquiterpenos encontrados em *S. leucotricha* possuem um intermediário comum, o cátion presilphiperfolanila (**139**). Após a saída do OPP do FPP forma o cátion FPP (**134**), posteriormente ocorre ciclização formando o cátion humulila (**135**), seguida de outra ciclização com fechamento de um ciclobutano formando o cátion cariofilila (**136**). Na sequência ocorre um rearranjo de ligação (**137**), depois outro rearranjo do par de elétrons da ligação π (**138**) e finalmente migração 1,3 de hidrogênio para formar o cátion presilphiperfolanila (**139**) (RADULOVIĆ; DENIĆ, 2013). Para formação dos presilphiperfolanos, ocorre desidrogenação do cátion presilphiperfolanila para formação do presilphiperfol-7-eno (**140**), depois saída de H^+ (**141**), migração da metila C-14 de C-6 para C-7 (**142**), nova desidrogenação (**143**), isomerização do grupo metila C-15 formando o leucotricheno (**144**), que sofrerá diferentes níveis de oxidação para formar **S14**, **S15** e **S17** (Figura 236; página 272).

A proposta de biossíntese dos silphiperfolanos também tem como precursor o cátion presilphiperfolanila (**139**), que com deslocamento de ligação forma o cátion cameroonanila (**145**) que já possui três anéis de cinco membros. Na sequência ocorre novo deslocamento de ligação para formação do cátion silphiperfolanila (**146**), depois saída de H^+ formando o silphiperfol-5-eno (**147**), isomerização de todos os estereocentros (**148**), e oxidação por monooxigenase usando NADPH para formar primeiro a substância **S16** e depois de outra oxidação, **S18** (RADULOVIĆ; DENIĆ, 2013; MENUT *et al.*, 1997) (Figura 237; página 273).

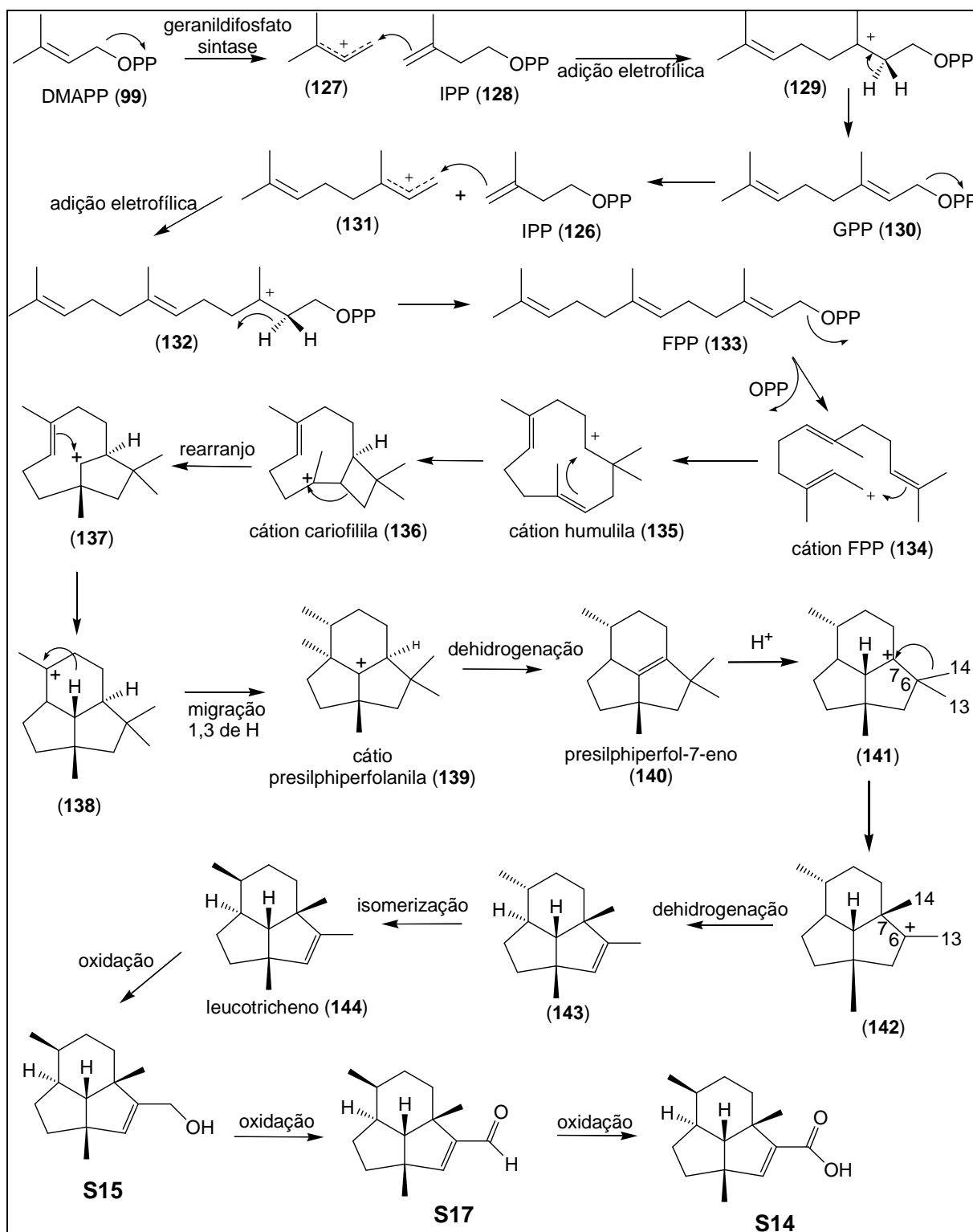


FIGURA 236. Proposta biogénica para os leucotrichanos **S14**, **S15** e **S17**.

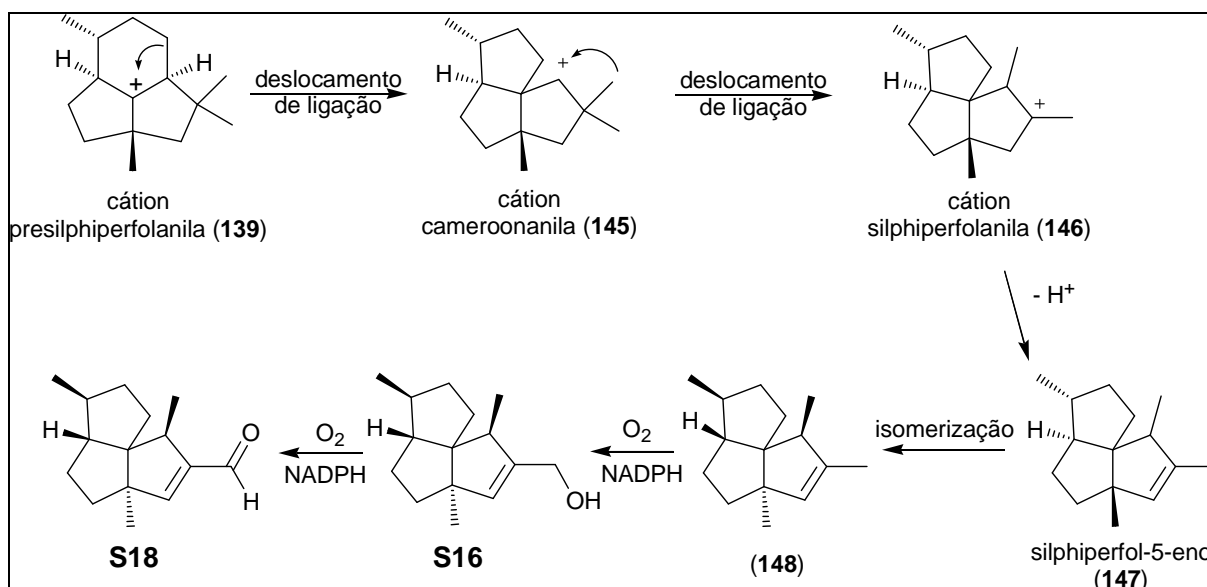


FIGURA 237. Proposta biogenética para os presilphiperfolanos **S16** e **S18** a partir do cátion presilphiperfolanila.

O cedrol (**S19**) e o 2,6,7-tri-*epi*-cedrol (**S20**) isolados de *S. canescens* possuem uma biossíntese diferente daquela proposta para os silphiperfolanos. Todos os sesquiterpenos derivam do difosfato de farnesila (FPP, **133**), mas no caso dos cedranos, o intermediário seguinte é o cátion nerolidila, ao invés do cátion humulila (**135**) (Figura 238; página 274). O difosfato de nerolidila possui duas formas isoméricas, *transoid* (**148**) e *cisoid* (**149**), cada uma gerando esqueletos de sesquiterpenos distintos. A primeira origina os germacranos, eremofilanos, aristolanos, etc (NOEL *et al.*, 2010), enquanto que a segunda gera os cedranos, zizaenos, acoradienos, curcumenos, etc (HONG; TANTILLO, 2009). No caso dos cedranos, após a formação do cátion farnesila (*cisoid*, **150**), ocorre ciclização 1,6 com formação do cátion bisabolila (**151**), posteriormente, rearranjo 1,2 de hidrogênio para formar o cátion homobisabolila (**152**) (BROCK *et al.*, 2011). Na sequência, ocorre ciclização 6,10 formando o cátion acorenila (**153**) e finalmente, ciclização 2,11, formando o cátion cedrila (**154**) (carbocátion terciário) que é o precursor dos cedranos (FARALDOS *et al.*, 2010). A oxidação desse cátion leva ao cedrol (**S19**), e reações de isomerização formam o 2,6,7-tri-*epi*-cedrol (**S20**) (Figura 238; página 274).

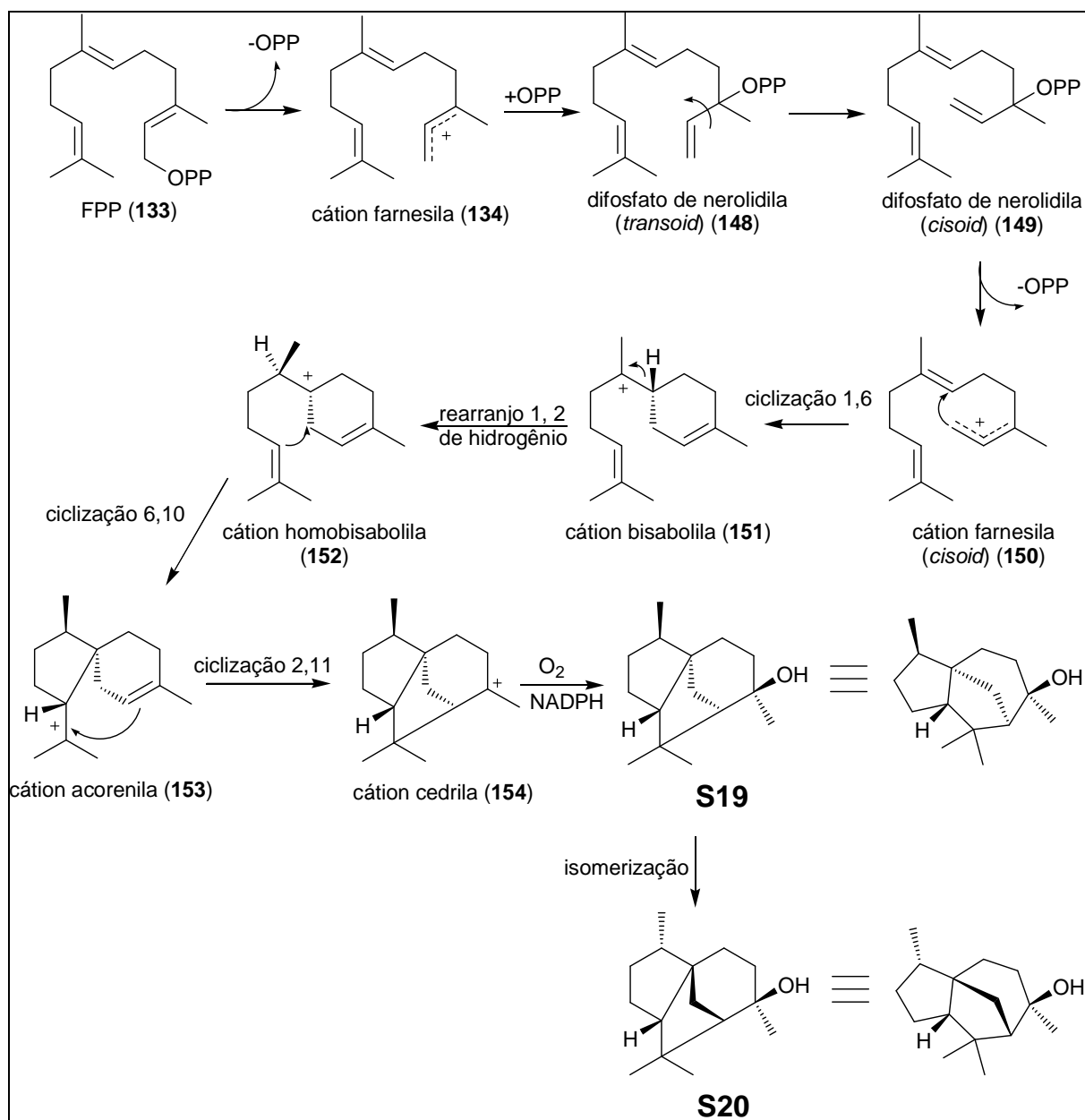


FIGURA 238. Proposta biogenética para os sesquiterpenos **S19** e **S20** a partir do difosfato de farnesila.

6 CONCLUSÃO

De *S. leucotricha* e *S. canescens* foram isoladas no total 35 substâncias, sendo que 16 foram obtidas de *S. leucotricha*, 13 de *S. canescens* e seis das duas espécies. Além disto, 39 sesquiterpenos foram identificados em frações voláteis de *S. canescens* através de CG-EM. As duas espécies apresentam grande similaridade química, uma vez que forneceram substâncias das mesmas classes: naftoquinonas, benzofuranos, sesquiterpenos, triterpenos, etilcicloexanos e glicosídeos fenólicos.

Os sesquiterpenos isolados pertencem ao grupo dos triquinanos, que são sesquiterpenos tricíclicos de ocorrência restrita na natureza. Três tipos de esqueletos triquinanos foram encontrados em *S. leucotricha*: silphiperfolano, presilphiperfolano e, um novo esqueleto, denominado leucotrichano. Em *S. canescens* ocorrem principalmente cedranos.

Naftoquinonas são recorrentes na família Gesneriaceae, mas em *S. canescens* foram encontradas naftoquinonas diferentes daquelas identificadas em outras espécies de *Sinningia*, sendo uma delas com um esqueleto novo (canescenona). Pela primeira vez foram isolados benzofuranos, uma classe de substâncias que ainda não havia sido encontrada na família.

Portanto, *S. leucotricha* e *S. canescens* acumulam substâncias típicas da família, algumas com novos esqueletos carbônicos. Esses resultados confirmam a diversidade química do gênero e o seu potencial para o isolamento de novas substâncias.

A similaridade química entre *S. canescens* e *S. leucotricha* sugere sistemas biossintéticos semelhantes, o que estaria de acordo com a sua proximidade filogenética, uma vez que ambas pertencem ao mesmo clado (Dircaea).

Os extratos etanólicos de ambas as espécies apresentaram atividade antiproliferativa, mas contra diferentes linhagens de células tumorais e com potências diferentes. O extrato de *S. canescens* foi apenas fracamente ativo contra células de mama e ovário resistente a múltiplos fármacos, enquanto que o extrato de *S. leucotricha* foi fortemente ativo contra células de leucemia. Dentre as classes de substâncias presentes, as naftoquinonas se destacam pela atividade citotóxica.

Nove naftoquinonas foram isoladas, sendo quatro delas comum às duas

plantas. Destas, apenas 7-hidroxi- α -dunniona (**S1**) teve a sua atividade antiproliferativa investigada, revelando uma forte atividade contra células de glioma e ovário resistente a múltiplos fármacos. Esses resultados indicam que *S. leucotricha* e *S. canescens* produzem diferentes substâncias com atividade citotóxica e apontam para a necessidade de avaliar outros extratos e substâncias puras dessas espécies, visando identificar substâncias mais potentes e/ou seletivas frente às células tumorais.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography / mass spectrometry** Illinois: Allured Publishing Corporation, 2007.
- AFFONSO, P.; TAKEUCHI, C.; NAKANO, R. K. Levantamento de Gesneriaceae Rich. & Juss. no núcleo Curucutu, Parque Estadual da Serra do Mar, São Paulo, SP, Brasil. **Hoehnea**, v. 41, n. 4, p. 563-572, 2014.
- ALBERTO MARCO, J.; SANZ-CERVERA, J. F.; MORANTE, M. D.; GARCÍA-LLISO, V.; VALLÈS-XIRAU, J.; JAKUPOVIC, J. Tricyclic sesquiterpenes from *Artemisia chamaemelifolia*. **Phytochemistry**, v. 41, n. 3, p. 837-844, 1996.
- ALVIN, A.; MILLER, K. I.; NEILAN, B. A. Exploring the potential of endophytes from medicinal plants as sources of antimycobacterial compounds. **Microbiological Research**, v. 169, n. 7–8, p. 483-495, 2014.
- ALY, A. H.; DEBBAB, A.; KJER, J.; PROKSCH, P. Fungal endophytes from higher plants: a prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products. **Fungal Diversity**, v. 41, p. 1-16, 2010.
- ARAÚJO, A. O.; CHAUTEMS, A.; FERREIRA, G. E. 2015. **Gesneriaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro** [Online]. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB119> [Acessado].
- ARAUJO, A. O.; SOUZA, V. C.; CHAUTEMS, A. Gesneriaceae da Cadeia do Espinhaço de Minas Gerais, Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 28, n. 1, p. 109-135, 2005.
- BALUNAS, M. J.; KINGHORN, A. D. Drug discovery from medicinal plants. **Life Sciences**, v. 78, n. 5, p. 431-441, 2005.
- BARBOSA, F. L.; MORI, L. S.; RIVA, D.; STEFANELLO, M. É. A.; ZAMPRONIO, A. R. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the ethanolic extract, fractions and 8-methoxylapachenol from *Sinningia allagophylla* tubers. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 113, p. 1-7, 2013.

- BARRERO, A. F.; DEL MORAL, J. Q. L.; LARA, A. Sesquiterpenes from *Juniperus thurifera* L. Stereochemistry in unusual cedrane and duprezianane series. **Tetrahedron**, v. 56, n. 23, p. 3717-3723, 2000.
- BLUNT, J. W.; COPP, B. R.; MUNRO, M. H. G.; NORTHCOTE, P. T.; PRINSEP, M. R. Marine natural products. **Natural Product Reports**, v. 27, n. 2, p. 165-237, 2010.
- BOGGAN, J.; SHALIT, P. What is a Gesneriad? **Gesneriads: The journal for Gesneriad Growers**, v. 56, n. 1, p. 14-21, 2006.
- BROCK, N. L.; TUDZYNSKI, B.; DICKSCHAT, J. S. Biosynthesis of sesqui- and diterpenes by the gibberellin producer *Fusarium fujikuroi*. **ChemBioChem**, v. 12, n. 17, p. 2667-2676, 2011.
- BROWN, G. D.; LIANG, G.-Y.; SY, L.-K. Terpenoids from the seeds of *Artemisia annua*. **Phytochemistry**, v. 64, n. 1, p. 303-323, 2003.
- BRUSOTTI, G.; CESARI, I.; DENTAMARO, A.; CACCIALANZA, G.; MASSOLINI, G. Isolation and characterization of bioactive compounds from plant resources: The role of analysis in the ethnopharmacological approach. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 87, p. 218-228, 2014.
- CAI, X.-H.; LUO, X.-D.; ZHOU, J.; HAO, X.-J. Quinones from *Chirita eburnea*. **Journal of Natural Products**, v. 68, n. 5, p. 797-799, 2005.
- CAO, S.; LIU, Z.; ZHANG, L.; XI, C.; LI, X.; WANG, G.; YUAN, R.; MU, Z. Development of an HPLC–MS/MS method for the simultaneous analysis of six kinds of parabens in food. **Analytical Methods**, v. 5, n. 4, p. 1016-1023, 2013.
- CHAUTEMS, A. **Flora Fanerogâmica do estado de São Paulo** (ed.) São Paulo: RiMa, 2003.
- CHAUTEMS, A.; LOPES, T. C. C.; PEIXOTO, M.; ROSSINI, J. Taxonomic revision of *Sinningia* Nees (Gesneriaceae) IV: six new species from Brazil and a long overlooked taxon. **Candollea**, v. 65, n. 2, p. 241-266, 2010.
- COOKE, R. G.; GHISALBERTI, E. L.; JOHNSON, B. L.; RASTON, C. L.; SKELTON, B. W.; WHITE, A. H. Absolute configurations of naturally occurring quinones: ventilagone and dunnione. **Australian Journal of Chemistry**, v. 59, n. 12, p. 925-930, 2006.
- DA SILVA, V. C.; DE CARVALHO, M. G.; ALVES, A. N. Chemical constituents from leaves of *Palicourea coriacea* (Rubiaceae). **Journal of Natural Medicines**, v. 62, n. 3, p. 356-357, 2008.

- DAMTOFT, S.; JENSEN, S. R. Three phenylethanoid glucosides of unusual structure from *Chirita sinensis* (Gesneriaceae). **Phytochemistry**, v. 37, n. 2, p. 441-443, 1994.
- DAS, L.; BHAUMIK, E.; RAYCHAUDHURI, U.; CHAKRABORTY, R. Role of nutraceuticals in human health. **Journal of Food Science and Technology**, v. 49, n. 2, p. 173-183, 2012.
- DAVIN, L. B.; LEWIS, N. G. An historical perspective on lignan biosynthesis: monolignol, allylphenol and hydroxycinnamic acid coupling and downstream metabolism. **Phytochemistry Reviews**, v. 2, n. 3, p. 257-288, 2003.
- DAYAN, F. E.; CANTRELL, C. L.; DUKE, S. O. Natural products in crop protection. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 12, p. 4022-4034, 2009.
- DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: A biosynthetic Approach** Chichester: John Wiley & Sons Ltd., 1997.
- ELSHAHAWI, S. I.; SHAABAN, K. A.; KHAREL, M. K.; THORSON, J. S. A comprehensive review of glycosylated bacterial natural products. **Chemical Society Reviews**, v., n. p., 2015.
- FARALDOS, J. A.; O'MAILLE, P. E.; DELLAS, N.; NOEL, J. P.; COATES, R. M. Bisabolyl-derived sesquiterpenes from tobacco 5-*epi*-aristolochene synthase-catalyzed cyclization of (2Z,6E)-farnesyl diphosphate. **Journal of the American Chemical Society**, v. 132, n. 12, p. 4281-4289, 2010.
- FOUCHE, G.; CRAGG, G. M.; PILLAY, P.; KOLESNIKOVA, N.; MAHARAJ, V. J.; SENABE, J. *In vitro* anticancer screening of South African plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, n. 3, p. 455-461, 2008.
- FRISCH, M. J. E. A. **Gaussian 03, Revision E.1**: Gaussian, Inc.: Wallingford CT, 2003, 2003.
- FURUYA, T.; ORIHARA, Y.; HAYASHI, C. Triterpenoids from *Eucalyptus perriniana* cultured cells. **Phytochemistry**, v. 26, n. 3, p. 715-719, 1987.
- GANESAN, A. The impact of natural products upon modern drug discovery. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 12, n. 3, p. 306-317, 2008.
- GECHEV, T. S.; HILLE, J.; WOERDENBAG, H. J.; BENINA, M.; MEHTEROV, N.; TONEVA, V.; FERNIE, A. R.; MUELLER-ROEBER, B. Natural products from resurrection plants: potential for medical applications. **Biotechnology Advances**, v. 32, n. 6, p. 1091-1101, 2014.

- GENILLOUD, O.; GONZÁLEZ, I.; SALAZAR, O.; MARTÍN, J.; TORMO, J. R.; VICENTE, F. Current approaches to exploit actinomycetes as a source of novel natural products. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 38, n. 3, p. 375-389, 2011.
- GERWICK, B. C.; SPARKS, T. C. Natural products for pest control: an analysis of their role, value and future. **Pest Management Science**, v. 70, n. 8, p. 1169-1185, 2014.
- GOMES, M. A. N.; SHEPHERD, S. L. K. Estudo de nutrição mineral *in vitro* relacionado à adaptação de *Sinningia allagophylla* (Martius) Wiehler (Gesneriaceae) às condições de cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 23, n. 2, p. 153-159, 2000.
- GROWEISS, A.; FENICAL, W.; CUN-HENG, H.; CLARDY, J.; ZHONGDE, W.; ZHONGNIAN, Y.; KANGHOU, L. Subergorgic acid, a novel tricyclopentanoid cardiotoxin from the pacific gorgonian coral *Subergorgia suberosa*. **Tetrahedron Letters**, v. 26, n. 20, p. 2379-2382, 1985.
- GULLO, V. P.; HUGHES, D. E. Exploiting new approaches for natural product drug discovery in the biotechnology industry. **Drug Discovery Today: Technologies**, v. 2, n. 3, p. 281-286, 2005.
- GYAWALI, R.; IBRAHIM, S. A. Natural products as antimicrobial agents. **Food Control**, v. 46, p. 412-429, 2014.
- HARVEY, A. L. Natural products in drug discovery. **Drug Discovery Today**, v. 13, n. 19, p. 894-901, 2008.
- HAYASHI, T.; SMITH, F. T.; LEE, K. H. Antitumor agents. 89. Psychorubrin, a new cytotoxic naphthoquinone from *Psychotria rubra* and its structure-activity relationships. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 30, n. 11, p. 2005-2008, 1987.
- HILL, R. A. Marine natural products. **Annual Reports Section "B"(Organic Chemistry)**, v. 107, n. p. 138-156, 2011.
- HONG, Y. J.; TANTILLO, D. J. Consequences of conformational preorganization in sesquiterpene biosynthesis: theoretical studies on the formation of the bisabolene, curcumene, acoradiene, zizaene, cedrene, duprezianene, and sesquithuriferol sesquiterpenes. **Journal of the American Chemical Society**, v. 131, n. 23, p. 7999-8015, 2009.

- HOU, Y.; BRAUN, D. R.; MICHEL, C. R.; KLASSEN, J. L.; ADNANI, N.; WYCHE, T. P.; BUGNI, T. S. Microbial strain prioritization using metabolomics tools for the discovery of natural products. **Analytical Chemistry**, v. 84, n. 10, p. 4277-4283, 2012.
- HUANG, H. J.; HE, L. Y. Chemical constituents from roots of *Chirita longgangensis* var. hongyao. **China Journal of Chinese Materia Medica**, v. 39, n. 6, p. 1040-1042, 2014.
- HUGO, C. J.; HUGO, A. Current trends in natural preservatives for fresh sausage products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 45, n. 1, p. 12-23, 2015.
- INOUE, K.; UEDA, S.; NAYESHIRO, H.; INOUE, H. Structures of unusually prenylated naphthoquinones of *Streptocarpus dunnii* and its cell cultures. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 30, n. 6, p. 2265-2268, 1982.
- INOUE, K.; UEDA, S.; NAYESHIRO, H.; MORITOME, N.; INOUE, H. Biosynthesis of naphthoquinones and anthraquinones in *Streptocarpus dunnii* cell cultures. **Phytochemistry**, v. 23, n. 2, p. 312-318, 1984.
- JENSEN, S. R. Caffeoyl phenylethanoid glycosides in *Sanango racemosum* and in the Gesneriaceae. **Phytochemistry**, v. 43, n. 4, p. 777-783, 1996.
- JIMÉNEZ, C.; RIGUERA, R. Phenylethanoid glycosides in plants: structure and biological activity. **Natural Product Reports**, v. 11, n. 6, p. 591-606, 1994.
- KANNATHASAN, K.; SENTHILKUMAR, A.; VENKATESALU, V. Mosquito larvicidal activity of methyl-*p*-hydroxybenzoate isolated from the leaves of *Vitex trifolia* Linn. **Acta Tropica**, v. 120, n. 1, p. 115-118, 2011.
- KEEFOVER-RING, K.; HOLESKI, L. M.; BOWERS, M. D.; CLAUSS, A. D.; LINDROTH, R. L. Phenylpropanoid glycosides of *Mimulus guttatus* (yellow monkeyflower). **Phytochemistry Letters**, v. 10, p. 132-139, 2014.
- KENNEDY, M. L. Phytochemical profile of the stems of *Aeonium lindleyi*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n. 3, p. 676-679, 2012.
- KHAMBAY, B. P.; BATTY, D.; CAHILL, M.; DENHOLM, I.; MEAD-BRIGGS, M.; VINALL, S.; NIEMEYER, H. M.; SIMMONDS, M. S. Isolation, characterization, and biological activity of naphthoquinones from *Calceolaria andina* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 2, p. 770-775, 1999.
- KINDO, I.; BRITTO, S. J.; ARULAPPAN, M. T.; THOMAS, S. Antimicrobial activity of *Henckelia humboldtiana* (Gardner) A. Weber & BL Burt (*Didymocarpus humboldtiana* (Gardner)) leaf extracts against human pathogens.

- International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences**, v. 3, n. 9, p. 2170-2175, 2014.
- KNOLL, A. H. **Life on a Young Planet: The First Three Billion Years of Evolution on Earth: The First Three Billion Years of Evolution on Earth**. (eds.): Princeton University Press, 2015
- KONDEVA-BURDINA, M.; ZHELEVA-DIMITROVA, D.; NEDIALKOV, P.; GIRRESER, U.; MITCHEVA, M. Cytoprotective and antioxidant effects of phenolic compounds from *Haberlea rhodopensis* Friv. (Gesneriaceae). **Pharmacognosy Magazine**, v. 9, n. 36, p. 294, 2013.
- KRAHL, A. H.; KRAHL, D. R. P.; VALSKO, J. J.; HOLANDA, A. S. S.; ENTRINGER-JR, H.; NASCIMENTO, J. W. Biologia reprodutiva e polinização das Gesneriaceae do Brasil: uma revisão de literatura. **Natureza on line**, v. 12, n. 1, p. 45-47, 2014.
- KRASUTSKY, P. A. Birch bark research and development. **Natural Product Reports**, v. 23, n. 6, p. 919-942, 2006.
- LAMBERT, J. B.; MAZZOLA, E. P. **Nuclear magnetic resonance spectroscopy: an introduction to principles, applications, and experimental methods**. (eds.): Pearson Education, 2004
- LI, J. W.-H.; VEDERAS, J. C. Drug discovery and natural products: end of an era or an endless frontier? **Science**, v. 325, p. 161-165, 2009.
- LI, L.; TSAO, R.; LIU, Z.; LIU, S.; YANG, R.; YOUNG, J. C.; ZHU, H.; DENG, Z.; XIE, M.; FU, Z. Isolation and purification of acteoside and isoacteoside from *Plantago psyllium* L. by high-speed counter-current chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1063, n. 1, p. 161-169, 2005.
- LI, W.; SUN, Y.; JOSEPH, J.; FITZLOFF, J. F.; FONG, H. H. S.; VAN BREEMEN, R. B. *p*-Hydroxybenzoic acid alkyl esters in *Andrographis paniculata* herbs, commercial extracts, and formulated products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 2, p. 524-529, 2003.
- LI, Y.; WICHA, M. S.; SCHWARTZ, S. J.; SUN, D. Implications of cancer stem cell theory for cancer chemoprevention by natural dietary compounds. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 22, n. 9, p. 799-806, 2011.
- LUKIANOVA-HLEB, E. Y.; REN, X.; ZASADZINSKI, J. A.; WU, X.; LAPOTKO, D. O. Plasmonic nanobubbles enhance efficacy and selectivity of chemotherapy

- against drug-resistant cancer cells. **Advanced Materials**, v. 24, n. 28, p. 3831-3837, 2012.
- MARTINS, A.; VIEIRA, H.; GASPAR, H.; SANTOS, S. Marketed marine natural products in the pharmaceutical and cosmeceutical industries: Tips for success. **Marine Drugs**, v. 12, n. 2, p. 1066-1101, 2014.
- MCCHESENEY, J. D.; VENKATARAMAN, S. K.; HENRI, J. T. Plant natural products: back to the future or into extinction? **Phytochemistry**, v. 68, n. 14, p. 2015-2022, 2007.
- MENEZES, C. B. A.; SILVA, B. P.; SOUSA, I. M. O.; RUIZ, A. L. T. G.; SPINDOLA, H. M.; CABRAL, E.; EBERLIN, M. N.; TINTI, S. V.; CARVALHO, J. E.; FOGGIO, M. A. *In vitro* and *in vivo* antitumor activity of crude extracts obtained from Brazilian *Chromobacterium* sp isolates. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 46, n. 1, p. 65-70, 2013.
- MENUT, C.; LAMATY, G.; WEYERSTAHL, P.; MARSCHALL, H.; SEELMANN, I.; AMVAM ZOLLO, P. H. Aromatic plants of tropical central Africa. Part XXXI. Tricyclic sesquiterpenes from the root essential oil of *Echinops giganteus* var. *lelyi* CD Adams. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 12, n. 6, p. 415-421, 1997.
- MESSANA, I.; SPERANDEI, M.; MULTARI, G.; GALEFFI, C.; BETTOLO, G. B. M. A cyclohexadienone and a cyclohexenone from *Halleria lucida*. **Phytochemistry**, v. 23, n. 11, p. 2617-2619, 1984.
- MIHAYLOVA, D.; BAHCHEVANSKA, S.; TONEVA, V. Examination of the antioxidant activity of *Haberlea rhodopensis* leaf extracts and their phenolic constituents. **Journal of Food Biochemistry**, v. 37, n. 3, p. 255-261, 2013.
- MIYASE, T.; AKIRA, K.; AKIRA, U.; TADATAKA, N.; MASANORI, K.; SEIGO, F.; YOSHIHIRO, A.; TSUNEMATSU, T. Studies on the acyl glycosides from *Leucoseptum japonicum* (Miq.) Kitamura et Murata. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 30, n. 8, p. 2732-2737, 1982.
- MOREIRA, R. Y.; ARRUDA, M. S.; ARRUDA, A. C.; SANTOS, L. S.; MÜLLER, A. H.; GUILHON, G. M. S. P.; SANTOS, A. S.; TEREZO, E. Antraquinonas e naftoquinonas do caule de um espécime de reflorestamento de *Tectona grandis* (Verbenaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 3, p. 392-396, 2006.

- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. **Journal of Natural Products**, v. 75, n. 3, p. 311-335, 2012.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; SNADER, K. M. The influence of natural products upon drug discovery. **Natural Product Reports**, v. 17, n. 3, p. 215-234, 2000.
- NOBILI, S.; LIPPI, D.; WITORT, E.; DONNINI, M.; BAUSI, L.; MINI, E.; CAPACCIOLI, S. Natural compounds for cancer treatment and prevention. **Pharmacological Research**, v. 59, n. 6, p. 365-378, 2009.
- NOEL, J. P.; DELLAS, N.; FARALDOS, J. A.; ZHAO, M.; HESS, B. A.; SMENTEK, L.; COATES, R. M.; O'MAILLE, P. E. Structural elucidation of *cisoid* and *transoid* cyclization pathways of a sesquiterpene synthase using 2-fluorofarnesyl diphosphates. **ACS Chemical Biology**, v. 5, n. 4, p. 377-392, 2010.
- OLEA, R. S. G.; ROQUE, N. F. Análise de misturas de triterpenos por RMN de ^{13}C . **Química Nova**, v. 13, n. 4, p. 278-281, 1990.
- PENG, J.; SHEN, X.; EL SAYED, K. A.; DUNBAR, D. C.; PERRY, T. L.; WILKINS, S. P.; HAMANN, M. T.; BOBZIN, S.; HUESING, J.; CAMP, R.; PRINSEN, M.; KRUPA, D.; WIDEMAN, M. A. Marine natural products as prototype agrochemical agents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 8, p. 2246-2252, 2003.
- PERRET, M.; CHAUTEMS, A.; DE ARAUJO, A. O.; SALAMIN, N. Temporal and spatial origin of Gesneriaceae in the New World inferred from plastid DNA sequences. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 171, n. 1, p. 61-79, 2013.
- PERRET, M.; CHAUTEMS, A.; SPICHIGER, R.; KITE, G.; SAVOLAINEN, V. Systematics and evolution of tribe Sinningieae (Gesneriaceae): evidence from phylogenetic analyses of six plastid DNA regions and nuclear ncpGS. **American Journal of Botany**, v. 90, n. 3, p. 445-460, 2003.
- QING-FA, W.; ZHONG, Y.-J.; XUE-HUI, S.; CONG-YING, L.; JING, L.; YAN-FANG, L.; LIANG, B. A new acorane sesquiterpene from *Lysionotus pauciflorus*. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 11, n. 2, p. 185-187, 2013.
- RADULOVIĆ, N. S.; DENIĆ, M. S. Essential oils from the roots of *Echinops bannaticus* Rochel ex Schrad. and *Echinops sphaerocephalus* L.(Asteraceae): Chemotaxonomic and biosynthetic aspects. **Chemistry & Biodiversity**, v. 10, n. 4, p. 658-676, 2013.

- REFULIO-RODRIGUEZ, N. F.; OLMSTEAD, R. G. Phylogeny of Lamiidae. **American Journal of Botany**, v. 101, n. 2, p. 287-299, 2014.
- RISHTON, G. M. Natural products as a robust source of new drugs and drug leads: past successes and present day issues. **The American Journal of Cardiology**, v. 101, n. 10A, p. S43-S49, 2008.
- RIVA, D.; BARISON, A.; STEFANELLO, M. É. A.; POLIQUESI, C. B.; RUIZ, A. L. T. G.; CARVALHO, J. E.; SALVADOR, M. J. Chemical study of *Sinningia allagophylla* guided by antiproliferative activity assays. **Química Nova**, v. 35, n. 5, p. 974-977, 2012.
- SASAKI, H.; TAGUCHI, H.; ENDO, T.; YOSIOKA, I.; HIGASHIYAMA, K.; OTOMASU, H. The glycosides of *Martynia louisiana* Mill. A new phenylpropanoid glycoside, martynoside. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 26, n. 7, p. 2111-2121, 1978.
- SCOTT, K. N. Carbon-13 nuclear magnetic resonance of biologically important aromatic acids. I. Chemical shifts of benzoic acid and derivatives. **Journal of the American Chemical Society**, v. 94, n. 24, p. 8564-8568, 1972.
- SHERIDAN, H.; NESTOR, C.; O'DRISCOLL, L.; HOOK, I. Isolation, structure elucidation, and cytotoxic evaluation of furanonaphthoquinones from *in vitro* plantlets and cultures of *Streptocarpus dunnii*. **Journal of Natural Products**, v. 74, n. 1, p. 82-85, 2010.
- SKEHAN, P.; STORENG, R.; SCUDIERO, D.; MONKS, A.; MCMAHON, J.; VISTICA, D.; WARREN, J. T.; BOKESCH, H.; KENNEY, S.; BOYD, M. R. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 82, n. 13, p. 1107-1112, 1990.
- SKOG, L. E. Recent developments in research in Gesneriaceae. **Gesneriads: The Journal for Gesneriad Growers**, v. 56, n. 1, p., 2006.
- SOUSA, M. P.; MATOS, M. E. O.; MACHADO, M. I. L.; BRAZ-FILHO, R.; VENCATO, I.; MASCARENHAS, Y. P. Triterpenoids from *Guettarda angelica*. **Phytochemistry**, v. 23, n. 11, p. 2589-2592, 1984.
- STEFANELLO, M. E. A.; CERVI, A. C.; WISNIEWSKI JR, A. Composition of essential oil of *Sinningia aggregata*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p. 331-333, 2005.
- STEPHENS, P. J.; DEVLIN, F. J.; CHABALOWSKI, C. F.; FRISCH, M. J. *Ab initio* calculation of vibrational absorption and circular dichroism spectra using

- density functional force fields. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 98, n. 45, p. 11623-11627, 1994.
- STEWART, B. W.; WILD, C. P. **World Cancer Report 2014**. (eds.) Lyon: IARC Communications, 2014
- STOJKOVIĆ, D.; REIS, F. S.; GLAMOČLIJA, J.; ĆIRIĆ, A.; BARROS, L.; VAN GRIENSVEN, L. J. L. D.; FERREIRA, I. C. F. R.; SOKOVIĆ, M. Cultivated strains of *Agaricus bisporus* and *A. brasiliensis*: chemical characterization and evaluation of antioxidant and antimicrobial properties for the final healthy product–natural preservatives in yoghurt. **Food & Function**, v. 5, n. 7, p. 1602-1612, 2014.
- STROHL, W. R. The role of natural products in a modern drug discovery program. **Drug Discovery Today**, v. 5, n. 2, p. 39-41, 2000.
- SU, Y.; BI, J.-L.; WANG, Y.-H.; TAN, Y.; YANG, J.; LIU, H.-X.; GU, W.; YIN, G.-F.; LONG, C.-L. Chemical constituents from *Chirita longgangensis* var. *hongyao* with inhibitory activity against porcine respiratory and reproductive syndrome virus. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 10, p. 1925-1932, 2012.
- SWINNY, E. E.; BLOOR, S. J.; WONG, H. ^1H and ^{13}C NMR assignments for the 3-deoxyanthocyanins, luteolinidin-5-glucoside and apigeninidin-5-glucoside. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 38, n. 12, p. 1031-1033, 2000.
- TIAN, J.; ZHAO, Q.-S.; ZHANG, H.-J.; LIN, Z.-W.; SUN, H.-D. New clerodindicins from *Clerodendrum indicum*. **Journal of Natural Products**, v. 60, n. 8, p. 766-769, 1997.
- TIAN, P. Y.; KANG, W. Y. Alpha-glucosidase inhibitory activity of *Aeschynanthus maculatus*. **China Journal of Chinese Materia Medica**, v. 37, n. 19, p. 2910-2912, 2012.
- TIITINEN, K. M.; YANG, B.; HARALDSSON, G. G.; JONSDOTTIR, S.; KALLIO, H. P. Fast analysis of sugars, fruit acids, and vitamin C in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 7, p. 2508-2513, 2006.
- UNEMOTO, L. K.; DE FARIA, R. T.; MENEGUCE, B.; DE ASSIS, A. M. Establishment of a protocol for *in vitro* propagation of *Sinningia leucotricha* (Hoehne) Moore - Gesneriaceae. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 28, n. 4, p. 503-506, 2006.

- VAISHNAV, P.; DEMAINE, A. L. Unexpected applications of secondary metabolites. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 2, p. 223-229, 2011.
- VERDAN, M. H. **Constituintes químicos e atividade citotóxica dos tubérculos de *Sinningia aggregata* (Gesneriaceae)**. Mestrado, Universidade Federal do Paraná, 2011.
- VERDAN, M. H.; BARISON, A.; SÁ, E. L.; SALVADOR, M. J.; POLIQUESI, C. B.; EBERLIN, M. N.; STEFANELLO, M. E. A. Lactones and quinones from the tubers of *Sinningia aggregata*. **Journal of Natural Products**, v. 73, n. 8, p. 1434-1437, 2010.
- VERDAN, M. H.; CERVI, A. C.; CAMPOS, F. R.; BARISON, A.; STEFANELLO, M. É. A. Anthraquinones and ethylcyclohexane derivatives from *Sinningia speciosa* "Fyiana". **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 37, n. 1, p. 40-42, 2009.
- VERDAN, M. H.; EHRENFRIED, C. A.; SCHARF, D. R.; CERVI, A. C.; BARISON, A.; SALVADOR, M. J.; STEFANELLO, M. É. A. Chemical constituents from *Sinningia canescens* and *S. warmingii*. **Natural Product Communications**, v. 9, n. 10, p. 1535-1537, 2014.
- VERDAN, M. H.; SOUZA, L. M.; CARVALHO, J. E.; COSTA, D. B. V.; SALVADOR, M. J.; BARISON, A.; STEFANELLO, M. É. A. Two new hydronaphthoquinones from *Sinningia aggregata* (Gesneriaceae) and cytotoxic activity of Aggregatin D. **Chemistry & Biodiversity**, v. 12, n. 1, p. 148-152, 2015.
- VERDAN, M. H.; STEFANELLO, M. É. A. Secondary metabolites and biological properties of Gesneriaceae species. **Chemistry & Biodiversity**, v. 9, n. 12, p. 2701-2731, 2012.
- WANG, G.-H.; AHMED, A. F.; KUO, Y.-H.; SHEU, J.-H. Two new subergane-based sesquiterpenes from a taiwanese gorgonian coral *Subergorgia suberosa*. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 7, p. 1033-1036, 2002.
- WANG, X. Q.; PENG, Y.; PENG, B.; XIAO, P.-G.; LIU, Y. Chemical constituents of *Paraboea glutinosa*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 50, n. 5, p. 952-954, 2014.
- WEBER, A. Gesneriaceae and Scrophulariaceae: Robert Brown and now. **Telopea**, v. 10, n. 2, p. 543-571, 2004a.

- WEBER, A. **Gesneriaceae**. In: Kubitzki K (ed) **The families and genera of vascular plants. Dicotyledons, Lamiales (except Acanthaceae incl. Avicenniaceae)**. (ed.) Berlin: Springer, 2004b.
- WEBER, A.; SKOG, L. E. 2007. **The genera of Gesneriaceae** [Online]. Disponível em: <http://www.genera-gesneriaceae.at/> [Acessado 16/07 2015].
- WEIDNER, C.; DE GROOT, J. C.; PRASAD, A.; FREIWALD, A.; QUEDENAU, C.; KLIEM, M.; WITZKE, A.; KODELJA, V.; HAN, C.-T.; GIEGOLD, S.; BAUMANN, M.; KLEBL, B.; SIEMS, K.; MÜLLER-KUHRT, L.; SCHÜRMANN, A.; SCHÜLER, R.; PFEIFFER, A. F. H.; SCHROEDER, F. C.; BÜSSOW, K.; SAUER, S. Amorphutins are potent antidiabetic dietary natural products. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 19, p. 7257-7262, 2012.
- WIEHLER, H. Medicinal gesneriads: 122 species of the rain forest plant family Gesneriaceae used medicinally in the neotropics. **Gesneriana**, v. 1, n. 1, p. 98-120, 1995.
- WIEMANN, P.; KELLER, N. P. Strategies for mining fungal natural products. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 41, n. 2, p. 301-313, 2014.
- WINEFIELD, C. S.; LEWIN, D. H.; SWINNY, E. E.; ZHANG, H.; ARATHOON, H. S.; FISCHER, T. C.; HALBWIRTH, H.; STICH, K.; GOSCH, C.; FORKMANN, G.; DAVIES, K. M. Investigation of the biosynthesis of 3-deoxyanthocyanins in *Sinningia cardinalis*. **Physiologia Plantarum**, v. 124, p. 419-430, 2005.
- XIAO, X. B.; LIN, Y. X.; XU, G. B.; GONG, X. B.; GU, Y.; TONG, J. F.; YANG, J. Two new cytotoxic naphthoquinones from *Didymocarpus hedyotideus*. **Helvetica Chimica Acta**, v. 94, n. 3, p. 404-409, 2011.
- YANG, W. 2014. *A kind of chinese medicine composition for the treatment of chronic pancreatitis and its preparation method and application*. China patent application CN 2014-10564326.
- YAO, Y.; WU, C.-Y.; HAO, Q.; LI, H.-Z.; LI, R.-T. Study on chemical constituents of *Corallodiscus flabellatus*. **Journal of Kunming University of Science and Technology (Natural Science Edition)**, v. 5, 2012.
- ZHANG, H.; JORDHEIM, M.; LEWIS, D. H.; ARATHOON, S.; ANDERSEN, Ø. M.; DAVIES, K. M. Anthocyanins and their differential accumulation in the floral and vegetative tissues of a shrub species (*Rhabdanthus solandri* A. Cunn). **Scientia Horticulturae**, v. 165, n. p. 29-35, 2014.

- ZHAO, Y.; BUTLER, E. B.; TAN, M. Targeting cellular metabolism to improve cancer therapeutics. **Cell Death & Disease**, v. 4, n. 3, p. e532, 2013.
- ZHOU, X.; LI, Y.; CHEN, X. Computational identification of bioactive natural products by structure activity relationship. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 29, n. 1, p. 38-45, 2010.